

Aus dem Institut für Physiologie, physiologische Chemie und
Ernährungsphysiologie im Fachbereich Tiermedizin
der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. D. Giesecke

Angefertigt unter Leitung von Priv. Doz. Dr. E. Scharrer

**UNTERSUCHUNGEN ZUR REGULATION
DER AMINOSÄURENAUFNAHME IN DIE
LEBER- UND MUSKELZELLE BEI
LÄMMERN UND SCHAFEN**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Jürgen Blatt

aus St. Ingbert

München 1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Physiologie, physiologische
Chemie und Ernährungsphysiologie im Fachbereich
Tiermedizin der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. D. Giesecke

Angefertigt unter Leitung von Priv. Doz. Dr. E. Scharrer

UNTERSUCHUNGEN ZUR REGULATION
DER AMINOSÄURENAUFNAHME IN DIE
LEBER- UND MUSKELZELLE BEI
LÄMMERN UND SCHAFEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Jürgen Blatt
aus
St. Ingbert

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Priv.-Doz. Dr. E. Scharrer
Korreferent: Prof. Dr. K. Walser

Tag der Promotion: 21. Februar 1975



Meinen lieben Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literatur	3
1. Der Transport von Aminosäuren in Leber- und Muskelzelle	3
2. Der Transport von Aminosäuren in Leber und Muskulatur in Abhängig- keit vom Alter	4
3. Der Transport von Aminosäuren in Leber und Muskulatur in Abhängig- keit von der Ernährung	4
4. Beeinflussung des Aminosäuretrans- ports in der Leber und Muskulatur durch Hormone	5
a) Insulin	5
b) Glukagon	7
c) Glucocorticoide	8
d) Prolactin	9
III. Eigene Untersuchungen	10
Problemstellung	10
1. Methodischer Teil	10
a) Tiermaterial	10
b) Fütterung der Versuchstiere	11
c) Anfertigung von Leberschnitten und Muskelpräparaten	15
d) Inkubationsbedingungen	16
e) Versuchskriterien	19
f) Bestimmungsverfahren	20
g) Statistik	21

2. Ergebnisse	22
a) Vorversuche an Ratten und Schafen	22
b) Altersabhängigkeit des Aminosäurentransports in Leber und Muskulatur beim Schaf	27
c) Beeinflussung des Amino- säurentransports in Leber und Muskulatur durch die Ernährung	32
d) Beeinflussung des Amino- säurentransports in Leber und Muskulatur durch Stoff- wechselhormone und 3', 5' cyclisches AMP.	38
Insulin	38
Glukagon und 3', 5' cycli- sches AMP	41
Cortison	47
Prolactin	47
IV. Diskussion	52
1.) Der aktive Transport von Amino- säuren in Leber und Muskulatur in Abhängigkeit von Alter und Ernährung	52
2.) Der Aminosäurentransport in Leber und Muskulatur unter dem Einfluß von Stoffwechselhormonen	53
V. Zusammenfassung	58
VI. Literaturverzeichnis	62

I. Einleitung

Die Konzentrationen der freien Aminosäuren in den Zellen sind im allgemeinen um ein Vielfaches höher als im Blutplasma (34). Dies beruht vor allem darauf, daß Aminosäuren in die Zelle gegen ein Konzentrationsgefälle aufgenommen werden (26, 32, 33, 34, 35, 39, 40, 41, 54, 57). Da der Proteinstoffwechsel der Zelle unter anderem durch die Konzentration der freien Aminosäuren in der Zelle determiniert wird, dürfte der aktive Transport von Aminosäuren durch die Zellmembran auch für die Regulation des Proteinstoffwechsels bedeutsam sein (27, 30, 46, 58, 63).

Untersuchungen an Ratten haben ergeben, daß der Aminosäuretransport durch die Zellmembran vor allem in der Leber- und Muskelzelle durch verschiedene Hormone beeinflussbar ist (27, 30, 46, 75, 76). So scheinen bei der Ratte Glucocorticoide (14), Glukagon (75) und Insulin (14, 64) die Aminosäureaufnahme in die Leberzelle zu stimulieren, während Insulin und Wachstumshormon die Aminosäureaufnahme in die Muskelzelle steigern (27, 46). Glucocorticoide hemmen dagegen die Aminosäureaufnahme in die Muskelzelle (43). Die diesen Befunden zugrunde liegenden Versuche wurden meist mit nicht metabolisierbaren Modellaminosäuren, wie zum Beispiel α -Aminoisobuttersäure (73) und Cycloleucin (54) durchgeführt.

Da Untersuchungen über die Regulation der Aminosäureaufnahme in die Leber und Muskelzelle bei landwirtschaftlichen Nutztieren bislang nicht vorliegen, haben wir derartige Versuche bei Lämmern und Schafen durchgeführt. Insbesondere interessierte, ob sich die mit der Vormagenentwicklung einhergehende Umstellung des Stoffwechsels

(3, 7, 9, 55, 72, 2, 49, 66) auf den Aminosäuretransport beziehungsweise die hormonelle Regulation des Aminosäuretransports in der Leber und Muskulatur auswirkt. Vor allem dem letztgenannten Aspekt galt unser besonderes Interesse, da die Vormagenentwicklung insbesondere auch das Endokrinum zu beeinflussen scheint (60, 69, 70) .

II. Literatur

1. Der aktive Transport von Aminosäuren in Leber- und Muskelzelle

In vielen älteren Untersuchungen über den Aminosäurentransport der Leberzelle wurden natürlich vorkommende Aminosäuren verwendet (73). Infolge der Metabolisierung dieser Substrate in der Leberzelle war jedoch eine exakte Messung des Transports nicht möglich. Erst durch die Einführung der nicht metabolisierbaren α -Aminoisobuttersäure (= α -AIB) (73, 75) gelang es, exakte Versuche über die Transportaktivität von Zellmembranen durchzuführen. α -AIB ist als Modellaminosäure für Transportstudien sehr gut geeignet, da sie mit einem Teil der im tierischen Organismus vorkommenden neutralen Aminosäuren um das gleiche Transportsystem konkurriert (17).

Die von Tews und Harper (73) an Leberschnitten von Ratten vorgenommenen diesbezüglichen Versuche ergaben, daß Anoxie, sowie Blockierung des oxydativen Stoffwechsels die Aufnahme von α -AIB gegen ein Konzentrationsgefälle in die Leber stark reduzieren.

Außerdem ist die aktive Aufnahme von Aminosäuren in die Leberzelle Na^+ -abhängig (18, 22, 40, 41, 78). Fehlt Na^+ im Inkubationsmedium, so kommt der aktive Aminosäurentransport zum Erliegen. Der gleiche Effekt kann durch Zugabe von Quabain, einem Inhibitor der $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATPase, zum Inkubationsmedium erreicht werden (4, 18, 24, 71, 73). Ferner hemmen sich verschiedene Aminosäuren beim Übertritt in die Zelle wechselseitig kompetitiv (18, 28; 31, 32, 33, 35, 39).

2. Der Transport von Aminosäuren in Leber und Muskulatur in Abhängigkeit vom Alter

Christensen und Clifford (16) stellten bei Meerschweinchen kurz nach der Geburt einen deutlichen Anstieg der Aufnahme von α - AIB und Glycin in die intrazelluläre Flüssigkeit der Leber fest. An Leberschnitten von Ratten im Altersabschnitt von der Geburt bis zur 6. Lebenswoche wiesen Tews und Harper (74) dagegen eine kontinuierliche Abnahme der Akkumulation von α - AIB in der Leberzelle nach. Analoge Befunde wurden von anderen Autoren (15) am Skelettmuskel der Ratte in vivo, sowie am Rattenzwerchfell in vitro (23, 27) erhoben.

3. Der Transport von Aminosäuren in Leber und Muskulatur in Abhängigkeit von der Ernährung

Nallathambi et al. (54) konnten zeigen, daß Futterentzug bei den Ratten zu einer erhöhten Aminosäureaufnahme in die Leberzelle führte. Dies konnte sowohl in vivo als auch an Leberschnitten in vitro nachgewiesen werden. Als Modellaminosäure wurde für diese Versuche die nicht metabolisierbare Aminosäure Cycloleucin¹⁾ verwendet. Auch die Cycloleucinaufnahme in die Muskelzelle wurde in diesen Untersuchungen geprüft. Eine Beeinflussung durch Futterentzug war in diesem Falle nicht nachweisbar.

Nach Untersuchungen von Tews et al (76) führt auch proteinreiche Ernährung bei der Ratte zu einer Stimulierung der Aminosäureaufnahme in die Leberzelle. In diesen Versuchen erhielten wachsende Ratten entweder eine Diät mit

1) 1-aminocyclopentan - 1-carbon - säure

normalem Proteingehalt (18% Kasein) oder eine Hochproteindiät (80% Kasein). Der Unterschied zwischen Kontroll- und Versuchstieren hinsichtlich der α -AIB Aufnahme in die Leberzelle war einen Tag nach dem Übergang auf proteinreiche Fütterung am deutlichsten (ca. 100 %). Der Unterschied verkleinerte sich nach 2 wöchiger proteinreicher Fütterung auf etwa 25 %. Die Autoren führen die durch proteinreiche Ernährung hervorgerufene Stimulierung des α -AIB-Transports in der Leber auf eine Erhöhung der Konzentration von cyclischem 3', 5'-AMP in der Leberzelle zurück.

Durch cyclisches 3', 5'-AMP wird nach Tews et al (75, 76) der aktive Aminosäuretransport durch die Zellmembran der Leberzelle gesteigert (12).

4. Beeinflussung des Aminosäuretransports in Leber und Muskulatur durch Hormone

a) Insulin

Chambers et al (14) stellten bei Untersuchungen an der perfundierten Rattenleber fest, daß sich bei Zugabe von Insulin zum Perfusat (0,01 i.E./ml) nach einer zweistündigen Perfusion die α -AIB-Aufnahme der Leber um 100 % steigerte. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Sanders und Riggs (65), die den Einfluß von Insulin auf den Transport von α -AIB und Cycloleucin in die Rattenleber in vivo untersuchten.

An Leberschnitten von Ratten ließ sich dieser Insulineffekt nicht nachweisen. Crawhall und Purkiss (19) berichten nämlich, daß eine Zugabe von Insulin zum Inkubationsmedium keine gesteigerte Aufnahme von

Methionin in Leberschnitten zur Folge hat.

Risser et al. (64) unternahmen in vitro-Versuche an Hepatomazellen von Ratten. Auch sie kamen zu dem Ergebnis, daß durch Insulin kein wesentlicher Einfluß auf den Transport von α - AIB ausgeübt wird. Nach vorausgegangener Präinkubation in Dexamethason-haltigem Medium konnte jedoch ein deutlicher Insulineffekt beobachtet werden.

Untersuchungen über den Einfluß von Insulin auf den Aminosäuretransport der quergestreiften Muskulatur wurden am isolierten Zwerchfell sowie an verschiedenen anderen Muskeln der Ratte vorgenommen. Die von Manchester (46) am Rattenzwerchfell für einige natürliche Aminosäuren unter Insulineinfluß nachgewiesene Transportsteigerung trat bei gleichzeitiger Hemmung der Proteinsynthese durch Puromycin beziehungsweise Cycloheximid noch deutlicher in Erscheinung. Dies spricht dafür, daß diesem Insulin-effekt keine Proteinsynthese zugrunde liegt. Nach Untersuchungen von Riggs et al (63) beeinflußt Insulin lediglich ein bestimmtes Transportsystem für neutrale Aminosäuren.

Dieses insulinsensitive System wird von den Autoren als A - System bezeichnet. Es ist in seiner Funktion vom Vorhandensein von Na^+ -Ionen abhängig. Die Untersucher ermittelten, daß 95 % der in die Muskelzellen des Rattenzwerchfells aufgenommenen α - AIB durch das insulinsensitive A - System in das Zellinnere gelangen. Weiterhin wurde in dieser Arbeit die Existenz eines zweiten Na^+ - unabhängigen Transportsystems festgestellt, welches keine Insulinsensitivität aufweist, das sogenannte L - System. Im Gegensatz zur α - AIB wurden nur 15 % der Aminosäure Alanin und nur 5 % der Aminosäure Leucin durch Vermittlung des hormonsensitiven Systems transportiert. Wie aus

Untersuchungen von Christensen (17) hervorgeht, haben zudem Glycin, Prolin, Threonin sowie α -Methylaminoisobuttersäure eine Affinität zum A - System.

So wurde durch Insulin in vitro die Aufnahme von Prolin in den musculus levator ani der Ratte gesteigert (1). Fricke und Clark (27) untersuchten den Insulineffekt auf den Aminosäuretransport am Zwerchfell der Ratte in vitro in Abhängigkeit vom Alter der Tiere. Es ergab sich, daß die Insulinsensitivität der Muskelzelle mit zunehmendem Alter zurückging. Die Aufnahme von α - AIB war am ersten Lebenstag sehr hoch und ließ sich durch Insulinzugabe zum Medium fast verdoppeln.

Bereits nach 8 Lebenstagen verringerte sich dieser Insulineffekt deutlich. Auch den Aminosäuretransport des Herzmuskels beeinflußt Insulin in vitro positiv (30).

b) Glukagon

Tews und Harper (75) beobachteten nach Zugabe von Glukagon zum Inkubationsmedium an Rattenleberschnitten einen erhöhten Transport von α - AIB in die Leberzelle. Da ein ähnlicher Effekt durch Zufügung von cyclischem 3', 5' - AMP zum Inkubationsmedium erzielt werden konnte, dürfte der Glukagoneffekt nach Ansicht der Autoren auf einer Aktivierung des Adenylcyclasesystems beruhen.

Crawhall et al. (19) konnten bei ihren Untersuchungen über den aktiven Transport von Methionin, Prolin und α - AIB an Rattenleberschnitten keine Beeinflussung durch Glukagon beobachten. Das Dibutyrylderivat des cyclischen 3', 5'-AMP stimulierte die Aufnahme von Methionin nur geringgradig. Dieser Effekt war zudem nicht immer nachweisbar. Hait und Mitarbeiter (30) beobachteten am

perfundierten Herzmuskel von Kaninchen bei Anwesenheit von Glukagon im Perfusat eine Hemmung des Transports von Leucin und Lysin.

Auch die durch Insulin hervorgerufene Stimulierung des Transports der α - AIB konnte beim Herzmuskel durch Glukagon sowie durch hohe Dosen von Dibutyryl 3', 5'-AMP aufgehoben werden.

c) Glucocorticoide

Noall und Mitarbeiter (56) konnten zeigen, daß Glucocorticoide in vivo den Transport von α - AIB in die Leberzelle bei der Ratte stimulieren.

In Untersuchungen von Chambers et al (14) wurde auch an der perfundierten Rattenleber nach Zugabe von Hydrocortison zum Perfusat eine Steigerung des α - AIB-Transports festgestellt. Demgegenüber hemmte Cortison die α - AIB Aufnahme durch das Rattenzwerchfell (43). Da sich diese Hemmung auch durch Puromycin, einem Inhibitor der Proteinsynthese simulieren ließ, scheint der Hemmeffekt von Cortison auf den α - AIB-Transport der Muskelzelle auf einer Blockierung der Proteinsynthese zu beruhen.

Auch in anderen extrahepatischen Geweben wie zum Beispiel den lymphatischen Geweben (50) sowie an isolierten Ratten-thymozyten (51, 52) wirken Glucocorticoide entsprechend. Auf Grund der durch Glucocorticoide hervorgerufenen Hemmung der Aminosäureaufnahme und der Proteinsynthese in den extrahepatischen Geweben gelangen somit in größerem Umfang Aminosäuren in die Leber, deren Aufnahme in die Leberzelle unter diesen Umständen, wie bereits oben erwähnt, zudem beschleunigt erfolgt (62).

d) Prolactin

Horrobin (38) konnte zeigen, daß nach Infusion von Aminosäuren der Prolactinspiegel im Blut ansteigt. Untersuchungen über die Wirkung intravenöser Injektionen von Wachstumshormon und Prolactin beim Schaf (47) ergaben, daß Wachstumshormon ähnlich wie Insulin zu einer Senkung des Plasmaamino-säurenspiegels führt, Prolactin dagegen keinen Einfluß auf den Gehalt an freien Aminosäuren im Blut ausübt. Über Einflüsse des Prolactins auf den Aminosäuretransport durch Zellmembranen ist nichts bekannt.

III. Eigene Untersuchungen

Problemstellung

Wie Untersuchungen an Ratten¹ ergeben haben, werden Aminosäuren von der Leber- und Muskelzelle gegen ein Konzentrationsgefälle aufgenommen.

Dieser aktive Transport unterliegt einer hormonellen Steuerung.

Da entsprechende Untersuchungen über den Aminosäurentransport in Leber und Muskel bislang beim Wiederkäuer nicht vorliegen, wird in dieser Arbeit über den Aminosäuretransport in diesen Organen bei Schafen berichtet. Es interessierte vor allem die Abhängigkeit des Aminosäuretransports von Alter und Vormagenentwicklung. Darüberhinaus wurde der Einfluß von Stoffwechselhormonen auf den Aminosäuretransport in Leber und Muskel untersucht.

1. Methodischer Teil

a) Tiermaterial

aa) Für die Untersuchungen über die Auswirkungen des Alters auf den Aminosäuretransport in Leber und Muskulatur fanden Lämmer bis zu einem Alter von 6 Tagen und einem Höchstgewicht von 8 kg sowie 2,5 bis 4 Monate alte Lämmer (= Schafe) mit Gewichten von 15 bis 40 kg Verwendung. Bei den letztgenannten Tieren war die Vormagenentwicklung bereits weit fortgeschritten. Alle Tiere gehörten zur Rasse "Merinolandschaf".

ab) Zur Klärung der Frage, welchen Einfluß die Vormagenentwicklung auf den Aminosäuretransport in Leber und

Muskulatur ausübt, wurden zwei Versuchsreihen mit je 12 gleichaltrigen Lämmern durchgeführt, die auf Grund unterschiedlicher Fütterung starke Unterschiede in der Vorma-
genentwicklung aufwiesen.

Jeweils 6 Tiere einer Versuchsreihe waren bis zum Alter von 8 bis 10 Wochen (1. Versuchsreihe) beziehungsweise 10 bis 12 Wochen (2. Versuchsreihe) ausschließlich mit Milchaustauschtränke ernährt worden (Gruppe "M"), während die restlichen 6 Tiere bis zur 6. Lebenswoche Milchaustauschtränke sowie Heu und Kraftfutter ad libitum erhalten hatten und anschließend nur noch Heu und Kraftfutter angeboten bekommen hatten (Gruppe "HK").

Die "HK"-Lämmer erreichten in der 1. Versuchsreihe ein Durchschnittsgewicht von 20,3 kg, die "M"-Lämmer ein Durchschnittsgewicht von 17,0 kg.

In der 2. Versuchsreihe erreichten die "HK"-Lämmer Durchschnittsgewichte von 20,5 kg, die "M"-Lämmer von 20,7 kg.

ac) Zum Vergleich wurden auch Versuche mit Sprague-Dawly-Ratten (Gewicht 200 - 350 g) durchgeführt.

b) Fütterung der Versuchstiere

ba) Lämmer im Alter bis zu 6 Tagen wurden teilweise unmittelbar nach der Kolostralmilchperiode für die Versuche herangezogen. Zum Teil war den Tieren vor der Tötung bereits für einige Tage Milchaustauschfutter¹⁾ (Tabelle 1; Konzentration der Tränke 160 g/l) über eine "Lammbaar" verabreicht worden.

Lämmer beziehungsweise Schafe von 15 bis 40 kg Körpergewicht wurden zum größten Teil von einem Schafmast-Betrieb

1) Bayer. Milchindustrie GmbH Landshut.

bezogen, wo sie bis zur 6. Lebenswoche neben einem Spezial-Milchaustauschfutter¹⁾ (siehe Tabelle 1) für die Lämmeraufzucht und Lämmermast, Kraftfutter (Zusammensetzung siehe Tabelle 2), Maissilage, Heu sowie eine Cu-freie Mineralsalzmischung zur ad libitum-Aufnahme angeboten bekamen.

Nach der 6. Lebenswoche wurde kein Milchaustauschfutter mehr verabreicht.

Leber und Muskulatur von 9 Schafen mit Gewichten zwischen 30 und 40 kg wurden vom Schlachthof bezogen. Über die Fütterung dieser Tiere sind keine Einzelheiten bekannt. Bei allen Tieren waren die Vormägen voll entwickelt.

bb) Fütterung der "M"- und "HK"-Lämmer

Für beide Versuchsreihen wurden neugeborene Lämmer mit einem Anfangsgewicht von durchschnittlich 4,4 kg verwendet. Bis zum Alter von 3 Wochen wurden alle Tiere mit Milchaustauschtränke¹⁾ (siehe Tabelle 1; Konz.: 160 g/l) ernährt. In der ersten Lebenswoche wurde bei täglich sechsmaliger Fütterung ein Durchschnittsverzehr von etwa 1 Liter pro Tier und Tag erreicht.

Der tägliche Verzehr stieg bis zur 3. Lebenswoche auf 2 Liter pro Tier und Tag an.

Von diesem Zeitpunkt an wurde den "HK"-Lämmern Heu und Kraftfutter (Zusammensetzung der Kraftfuttermischung siehe Tabelle 2) angeboten. Die Aufnahme von Kraftfutter nahm von der 3. Lebenswoche mit 100 g pro Tier und Tag bis zur 6. Lebenswoche auf 330 g pro Tier und Tag zu. Von diesem Zeitpunkt an wurde keine Milchaustauschtränke mehr verabreicht. Die Kraftfutterraufnahme erhöhte sich

1) Bayer. Milchindustrie GmbH Landshut

auf etwa 700 g pro Tier und Tag. In der zweiten Versuchsserie wurden die Kraftfuttermengen in den beiden letzten Lebenswochen der Tiere eingeschränkt. Sie erhielten in der vorletzten Lebenswoche 600 g pro Tier und Tag in der letzten Woche nur noch 400 g pro Tier und Tag an Kraftfutter.

Die nur mit Milch ernährten Lämmer nahmen ab der 3. Lebenswoche täglich etwa 2 Liter auf, in der 6. Lebenswoche etwa 2,5 Liter. Ab der 6. Lebenswoche wurde bei dieser Tiergruppe ("M") die Konzentration des Milchaustauschfutters auf 200 g/l erhöht. Pro Tier und Tag wurde ab diesem Zeitpunkt 3 Liter Tränke verabreicht.

Tabelle 1

Zusammensetzung des speziell für die Lämmermast und
-aufzucht zusammengestellten Milchaustauschfutters:

Magermilchpulver	62	%
Fett	30	%
teilverzuckerte aufgeschlossene		
Maisquellstärke	3	%
Süßmolkenpulver	2,5	%
Vitamin - Mineralstoff -		
Antibiotica - Vormischung	2,5	%
	100,0	%

Tabelle 2

Zusammensetzung des Kraftfutters:

Sojaschrot	33,3	%
Zuckerrübenschnitzel	30,8	%
Hafereschrot	16,7	%
grob gemahlener Gerstenschrot	16,7	%
Mineralsalz-Vitaminmischung ¹⁾		
für Lämmer	2,5	%
	100,0	%

1) Baywa München-Moosach

bc) Fütterung der Ratten

Die Ratten, die für die Vorversuche und die Untersuchungen über die hormonelle Steuerung des Aminosäuretransports in die Leber herangezogen wurden, erhielten Altromin[®] 1) -Pellets sowie Wasser zur freien Aufnahme geboten.

c) Anfertigung von Leberschnitten und Muskelpräparaten

Außer den Schafen und Lämmern, die von einem Schafmastbetrieb bezogen wurden sowie den Ratten, die zu den Vorversuchen und zu den Untersuchungen über den Aminosäuretransport in der Leber unter Einfluß von Stoffwechselhormonen herangezogen wurden, waren allen anderen Versuchstieren 12 Stunden vor der Tötung das Futter entzogen worden. Die Lämmer und Schafe wurden für die Entnahme der Gewebeproben mit Rompun[®] (1 mg/kg Körpergewicht i.m.) und Ketanest[®] (2,5 mg/kg Körpergewicht i.m.) narkotisiert. Die Ratten wurden mit Äther betäubt.

Am narkotisierten Tier wurde ein Stück Leber, bei Schafen und Lämmern auch der Kehlkopf entnommen und sofort in Eis gelegt.

Anschließend wurden mittels eines "Stadie-Riggs"-Mikrotoms Leberschnitte (Dicke ca. 0,3 bis 0,5 mm) angefertigt und in eine gekühlte (4° C) Krebs-Henseleit (44) - Bicarbonatpufferlösung (pH 7,4) bis zum Ende des Schneidevorgangs verbracht. (Zusammensetzung der Pufferlösung nach Krebs-Henseleit (44) siehe Tabelle 3.)

Nach der Herstellung aller Schnitte (25 bis 30 Schnitte pro Versuch) wurden diese zunächst für 10 Minuten bei

1) Altrogge Spezialfutterwerk 4937 Lage/Lippe

Zimmertemperatur in einem 250 ml-Erlenmeyerkolben, der 100 ml Krebs-Henseleit Bicarbonatpuffer (pH 7,4) enthielt, präinkubiert.

Während der Präinkubation wurde der Kolben mit einer Frequenz von 120 Ausschlägen/Minute geschüttelt.

Die Kehlkopfmuskeln wurden möglichst vorsichtig freipräpariert, um Verletzungen der einzelnen Fasern zu vermeiden. Meistens wurden die Mm. cricothyreoidei abpräpariert. Falls dies nicht ohne Verletzung der Muskulatur gelang, wurden die Mm. cricoartenoidei verwendet.

Sie wurden zunächst ebenfalls für 10 Minuten in Krebs-Henseleit-Bicarbonatpuffer (pH 7,4) präinkubiert.

d) Inkubationsbedingungen

Nach der erwähnten 10-minütigen Präinkubation wurden jeweils 4 Leberschnitte (max. 200 mg, siehe Tabelle 5) beziehungsweise einer der oben erwähnten Muskeln jeweils in einen 50 ml-Erlenmeyerkolben überführt.

Jeder Kolben enthielt als Inkubationsmedium 5 ml Krebs-Henseleit-Bicarbonatpuffer (siehe Tabelle 3). Im Inkubationsmedium war als Transportsubstrat α -Aminoisobuttersäure ¹⁾ in einer Konzentration von 0,065 mM enthalten.

Bei Versuchen, die über den Einfluß von Stoffwechselhormonen sowie von cyclischem 3', 5'-AMP auf den Aminosäuretransport in Leber und Muskulatur in vitro Aufschluß geben sollten, wurden diese Wirkstoffe dem Inkubationsmedium in den in Tabelle 4 angegebenen Konzentrationen zugefügt. Die Inkubation wurde unter O₂/CO₂ Atmosphäre (95 : 5) in einem Schüttelwasserbad bei 37° C und einer Frequenz von

1) (¹⁴C- -Aminoisobuttersäure, Radiochemical Center Amersham)

120 Ausschlägen/Minute vorgenommen. Die Inkubationsdauer betrug meist 80 Minuten (vergleiche Abb. 1 und 2).

Tabelle 3

Zusammensetzung der Krebs-Henseleit-Bikarbonatpufferlösung (44):

1. NaCl-Lösung	0,90 % ig	100 Teile
2. KCl-Lösung	1,15 % ig	4 Teile
3. CaCl ₂ -Lösung	0,11 M	3 Teile
4. KH ₂ PO ₄ -Lösung	2,11 % ig	1 Teil
5. MgSO ₄ x 7 H ₂ O-Lösung	3,82 % ig	1 Teil
6. NaHCO ₃ -Lösung ¹⁾	1,30 % ig	21 Teile

1) Die NaHCO₃-Lösung wurde 1 Stunde mit CO₂ begast.

Daraus ergaben sich folgende Ionenkonzentrationen:

143,3 m Äq Na⁺, 6 m Äq K⁺, 2,5 m Äq Ca⁺⁺, 1,2 m Äq Mg⁺⁺,
128 m Äq Cl⁻, 25 m Äq HCO₃⁻, 1,2 m Äq H₂PO₄⁻, 1,2 m Äq SO₄⁻⁻.

Tabelle 4

Konzentrationen der dem Inkubationsmedium zugefügten Wirkstoffe:

1. Insulin ¹⁾	0,1 i E/ml Inkubationsmedium
2. Glukagon ¹⁾	3 · 10 ⁻⁶ M
3. cycl. 3' - 5' AMP ¹⁾	10 ⁻³ M
4. Cortison ¹⁾	10 ⁻⁶ M
5. Prolactin ²⁾	0,1 i E/ml Inkubationsmedium

1) Serva-Entwicklungslabor, Heidelberg

2) Ferring Arzneimittel GmbH, Düsseldorf.

e) Versuchskriterien

Als Transportsubstrat diente die nicht metabolisierbare ^{14}C - markierte Aminosäure α - Aminoisobuttersäure ($=\alpha$ - AIB) (73). Zur Beurteilung des aktiven Aminosäuretransports in der Leber und Muskelzelle wurde der für das Substrat α - AIB während der Inkubation zustande kommende Konzentrationsgradient (= Quotient) zwischen der intrazellulären Flüssigkeit der Leberschnitte beziehungsweise des Muskels und dem Inkubationsmedium herangezogen.

Das intrazelluläre Flüssigkeitsvolumen ergibt sich aus der Differenz zwischen dem Gesamtwassergehalt der inkubierten Leberschnitte beziehungsweise des Muskels, der durch Trocknung bei 105°C bestimmt wurde, und dem extrazellulären Flüssigkeitsanteil.

Der extrazelluläre Flüssigkeitsanteil wurde durch Inkubation eines Teiles der Leberschnitte und jeweils eines Muskels in ^{14}C -Inulin¹⁾-haltigem Medium ermittelt (54, 73, 75, 77). Da sich Inulin lediglich im Extrazellulärraum verteilt, kann nach Bestimmung des Inulingehaltes der inkubierten Schnitte und des Muskels der Extrazellulärraum errechnet werden. Dabei wird vorausgesetzt, daß die Inulinkonzentration des Inkubationsmediums und der extrazellulären Flüssigkeit der Leberschnitte und des Muskels am Ende der Inkubation identisch sind. Einflüsse der Inkubationsdauer zeigt Abbildung 1 und 2.

Diese Voraussetzung gilt auch für die Konzentration des Transportsubstrats im Extrazellulärraum beziehungsweise Inkubationsmedium.

1) ^{14}C -Inulin, Radiochemical Center, Amersham

Der α -AIB Konzentrationsgradient zwischen der intra- und extrazellulären Flüssigkeit von Leberschnitten beziehungsweise Muskeln ergibt sich folgendermaßen:

$$\frac{{}^{14}\text{C-Aktivität/ml Intrazellulärflüssigkeit}}{{}^{14}\text{C-Aktivität/ml Inkubationsmedium}}$$

Die dafür erforderliche ${}^{14}\text{C-Aktivität/ml Intrazellulärflüssigkeit}$ wurde, wie folgt, berechnet:

$$\frac{{}^{14}\text{C-Akt./g Gew.} - {}^{14}\text{C-Akt./ml Med.} \times \text{ml Inulinraum/g Gew.}}{\text{ml Gewebewasser/g Gewebe} - \text{ml Inulinraum/g Gewebe}}$$

Der Inulinraum (= ml extrazelluläre Flüssigkeit/g Gewebe) wurde nach folgender Formel ermittelt:

$$\frac{{}^{14}\text{C-Aktivität/g Gewebe}}{{}^{14}\text{C-Aktivität/ml Medium}}$$

f) Bestimmungsverfahren

Für die Bestimmung der ${}^{14}\text{C-Aktivität}$ der Leberschnitte und der Muskeln wurden diese nach der Inkubation kurz mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült, dann auf Filterpapier abgetupft, gewogen und in Zählfläschchen überführt. Anschließend wurde zur Auflösung der Schnitte und Muskeln 1,5 ml eines "Sample Solubilizers" (Soluene 350 der Firma Packard Instruments) hinzugefügt. Die Auflösung wurde im Trockenschrank bei 37 bis 38°C vorgenommen und dauerte etwa einen Tag. Diese Bedingungen mußten strikt eingehalten werden, weil sich der noch zu erläuternde Quencheffekt bei höheren Auflösungstemperaturen ändert.

Anschließend wurden die ${}^{14}\text{C-Aktivitäten}$ gemessen. Zu den aufgelösten Proben von Leber und Muskulatur wurden zu diesem Zweck 20 ml Toluol-Scintillator-Lösung hinzupipettiert. Vom Inkubationsmedium wurde jeweils 1 ml abpipettiert und mit 20 ml Bray-Scintillator-Lösung (8) in die Zählfläschchen verbracht.

Die Messung der Radioaktivität erfolgte in einem Flüssigkeitsscintillationspektrometer (Packard Instruments GmbH, Modell 3375). Der Quencheffekt wurde durch externe Standardisierung ermittelt.

Die Meßausbeute betrug für die Leber durchschnittlich 76 %, für die Muskulatur etwa 78 %, für die Inkubationsmedien zwischen 66 und 70 %.

g) Statistik

Bei allen vorliegenden Ergebnissen sind bei Vergleichen zwischen einzelnen Tiergruppen die Mittelwerte und die Standardabweichungen der einzelnen Gruppen angegeben. (n = Tierzahl).

Bei Untersuchungen über Einflüsse von Stoffwechselhormonen auf den α - AIB Transport in Leber und Muskelzelle sind Mittelwerte und Standardabweichungen, die sich aus der Anzahl der jeweils verschieden behandelten Leberschnitte beziehungsweise Kehlkopfmuskeln ergeben haben, angegeben. (n = Anzahl der Leberschnitte beziehungsweise Kehlkopfmuskeln).

Mit Hilfe des 2-seitigen t-Tests nach Student (21) wurden die Gruppenunterschiede auf ihre Signifikanz geprüft. Bei kleineren Stichprobenzahlen ($n < 10$) wurde an Stelle des t-Testes der Mann-Whitney-U-Test (67) verwendet. Ferner wurde bei paarweisen Vergleichen der Wilcoxon-Test (67) zur Prüfung der Signifikanz der Unterschiede herangezogen.

Die Art der statistischen Auswertung wurde bei den aufgeführten Ergebnissen jeweils angegeben.

2. Ergebnisse

a) Vorversuche an Ratten und Schafen

Zunächst wurden Untersuchungen an Leberschnitten von Ratten durchgeführt. Die von verschiedenen Autoren (18, 54, 73, 74, 75) beschriebenen Methoden wurden diesen Untersuchungen zugrunde gelegt. Es sollte festgestellt werden, unter welchen Bedingungen der aktive Transport von α - Aminoisobuttersäure in der Leberzelle optimal erfolgt (Tabelle 5).

Tabelle 5

α - AIB - Transport von Rattenleberschnitten in Abhängigkeit vom Gesamtgewicht des pro Erlenmeyerkolben inkubierten Lebergewebes.

Inkubation im inulinhaltigem Medium: 40 Minuten

Inkubation im α - AIB-Medium: 60 Minuten

mg <u>Lebergewebe</u>		α - AIB ¹⁾		Extrazellulär-	
Kolben		Gradient	n ²⁾	raum in %	n ²⁾
24 - 30		2,83 $\pm$ 0,36	11	28 (angenommen)	-
50 - 100		2,90 $\pm$ 0,22	10	26,1 $\pm$ 2,6	10
130 - 150		2,80 $\pm$ 0,37	8	28,4 $\pm$ 2,8	7
150 - 200		2,81 $\pm$ 0,19	6	28,6 $\pm$ 5,4	7
200 - 210		2,65 $\pm$ 0,38	8	27,8 $\pm$ 2,5	11

1) Gradient zwischen intra- und extrazellulärer Flüssigkeit der Schnitte

2) Anzahl der Schnitte, die jeweils inkubiert wurden.

Aus Tabelle 5 geht hervor, daß bei einem Gesamtgewicht der Leberschnitte pro Inkubationsansatz von weniger als 50 bis zu 200 mg weder Unterschiede in der Transportfähigkeit der Leberschnitte für α -AIB noch in der Größe des Extrazellulärtraumes der Schnitte auftraten. Daher wurden in den weiteren Versuchen jeweils 4 Leberschnitte mit einem Gewicht von jeweils 30 bis 50 mg pro Inkubationsansatz inkubiert.

Nallathambi und Mitarbeiter (54) registrierten an Rattenleberschnitten für den Transport von Cycloleucin nach einer Inkubationszeit von 45 Minuten ein "steady state".

Wie aus der Abbildung 1 zu ersehen ist, wurde in entsprechenden eigenen Untersuchungen für den α -AIB-Transport von Rattenleberschnitten nach einer Inkubationszeit von 60 bis 80 Minuten ein "steady state" erreicht.

Analoges dürfte, wie Abbildung 2 zeigt, auch für Leberschnitte und isolierte Kehlkopfmuskeln von Schafen gelten.

Zur Klärung der Frage, ob die Transportaktivität der Leber und Muskelzelle nach 80 minütiger Inkubation noch voll erhalten ist, wurden folgende Versuche durchgeführt: Ein Teil der Leberschnitte, beziehungsweise ein Kehlkopfmuskel, wurden zunächst 20 Minuten in einer Krebs-Henseleit-Lösung (pH 7,4, 37° C) inkubiert. Anschließend wurde dieser Lösung soviel ^{14}C - α -AIB zugefügt, daß die oben angegebene Molarität (0,065 mM) erhalten wurde.

Die Leberschnitte und der Muskel wurden dann weitere 80 Minuten inkubiert, sodaß die Gesamtinkubationsdauer 100 Minuten betrug. Zur Kontrolle dienten Leberschnitte, beziehungsweise ein Kehlkopfmuskel, welche 80 Minuten lang lediglich in der ^{14}C - α -AIB-haltigen Lösung inkubiert wurden. Die entsprechenden Ergebnisse sind in Abbildung 3

dargestellt. Es zeigte sich, daß sowohl die Leberschnitte, als auch der isolierte Muskel nach einer vorausgegangenen 20-minütigen Inkubation in Krebs-Henseleit-Lösung innerhalb von 80 Minuten die gleiche Menge α -AIB aufnahmen wie die Kontrollpraeparationen. Daraus ergibt sich, daß während eines Inkubationszeitraumes von 80 Minuten die Transportfähigkeit sowohl der Leber- als auch der Muskelzelle erhalten bleibt.

Aus der Abbildung 4 ist zu ersehen, daß auch bei einer Verdoppelung der Inkubationszeit keine signifikante Änderung des mit Hilfe des ^{14}C -Inulin ermittelten Extrazellulär-raumes zu verzeichnen ist. Für die Bestimmung des Extrazellulär-raumes reicht somit eine Inkubationszeit von 40 Minuten aus.

Abb.1 α - Aminoisobuttersäuregradienten zwischen intra - und extrazellulärer Flüssigkeit von Rattenleberschnitten in Abhängigkeit von der Inkubationszeit.

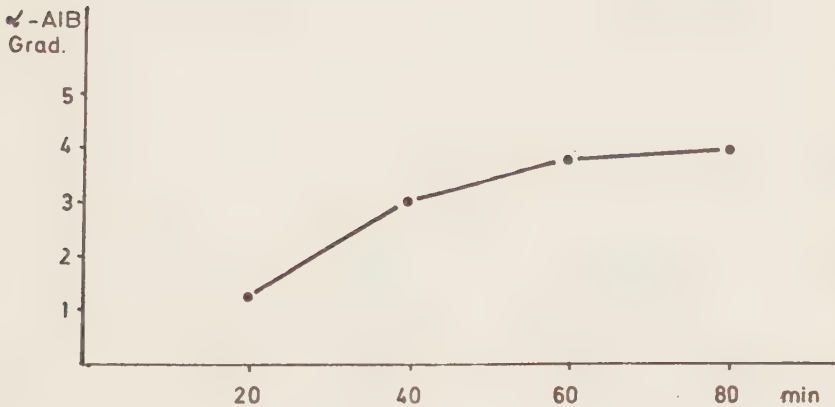


Abb.2 α - Aminoisobuttersäuregradienten zwischen intra - und extrazellulärer Flüssigkeit von Leberschnitten sowie isolierten Kehlkopfmuskeln von Schafen in Abhängigkeit von der Inkubationszeit.

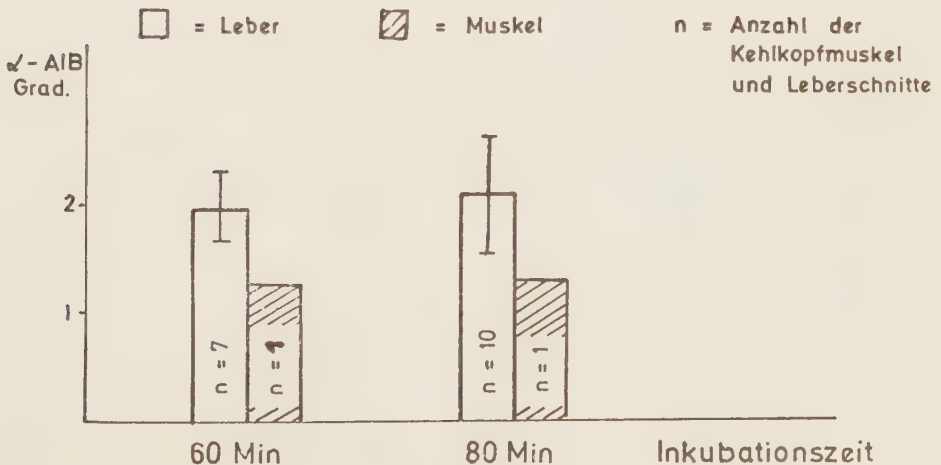


Abb.3 α - Aminoisobuttersäuregradienten zwischen intra- und extrazellulärer Flüssigkeit von Leberschnitten bzw. isolierten Kehlkopfmuskeln von Schafen.

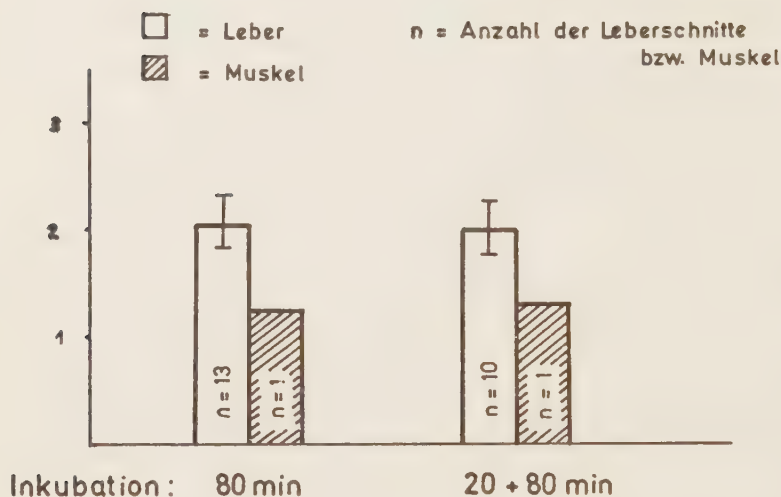
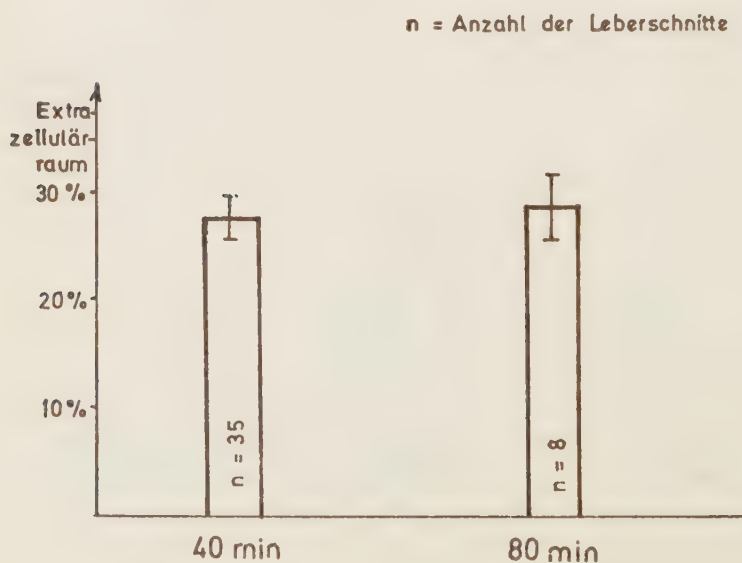


Abb.4 Abhängigkeit des Extrazellulär- raumes von Rattenleberschnitten (= Inulinraum) von der Inkubationszeit.



b) Altersabhängigkeit des Aminosäuretransports in Leber und Muskulatur beim Schaf

Es wurden Untersuchungen über den α - AIB-Transport von Leber und Muskulatur an Schafen mit voll entwickeltem Vormagensystem (Gewicht 15 bis 40 kg, Alter 2,5 bis 4 Monate) sowie an jungen Lämmern (Gewicht 2,5 bis 8 kg Alter maximal 1 Woche) vorgenommen. Zur Beurteilung des α - AIB-Transports in der Leber und in der quergestreiften Muskulatur wurde der während der Inkubation zwischen der intrazellulären Flüssigkeit der Leberschnitte beziehungsweise Kehlkopfmuskeln und dem Inkubationsmedium beziehungsweise der extrazellulären Flüssigkeit zustande kommende Konzentrationsgradient herangezogen. Die entsprechenden Mittelwerte sind in Tabelle 6 und 7 aufgeführt. Tabelle 7 enthält Mittelwerte der Kehlkopfmuskulatur von insgesamt 51 Schafen, von welchen 18 zusätzlich aus dem Schlachthof bezogen wurden.

In Abbildung 5 und 6 sind die bei den einzelnen Tieren erhaltenen Werte in Abhängigkeit vom Körpergewicht dargestellt. Jedem Punkt beziehungsweise Kreuz der Abbildung 5 und 6 liegen die Ergebnisse von jeweils 8 Leberschnitten beziehungsweise einem Kehlkopfmuskel zugrunde.

In den Abbildungen 5 und 6 sind die Werte der "Schlachthofschafe" nicht aufgeführt, da lediglich der Gewichtsbereich (30 bis 40 kg), nicht jedoch die Einzelgewichte dieser Tiere bekannt waren.

Die für diese 9 Tiere erhaltenen Werte (α - AIB-Gradient, Leber: $2,64 \pm 0,69$; Muskel: $1,41 \pm 0,33$) deckten sich jedoch mit den entsprechenden Werten der übrigen Schafe.

Tabelle 6

α - AIB-Transport in der Leber bei Schafen und Lämmern

	Schafe (n^1) = 34)		Lämmer (n^1) = 12)	
α - AIB-Gradient				
zwischen intra und extrazellulärer Flüssigkeit	2,32 $\pm$	0,60	p < 0,01	3,75 $\pm$ 1,72
Extrazellulär- raum in %	27,4 $\pm$	6,62		27,3 $\pm$ 6,34

Tabelle 7

α - AIB-Transport in der quergestreiften Muskulatur

	Schafe (n^1) = 51)		Lämmer (n^1) = 12)	
α - AIB-Gradient				
zwischen intra und extrazellulärer Flüssigkeit	1,53 $\pm$ 0,41	p < 0,001	3,66 $\pm$	1,53
Extrazellulär- raum in %	27,5 $\pm$ 6,0	p < 0,05	36,0 $\pm$	10,9

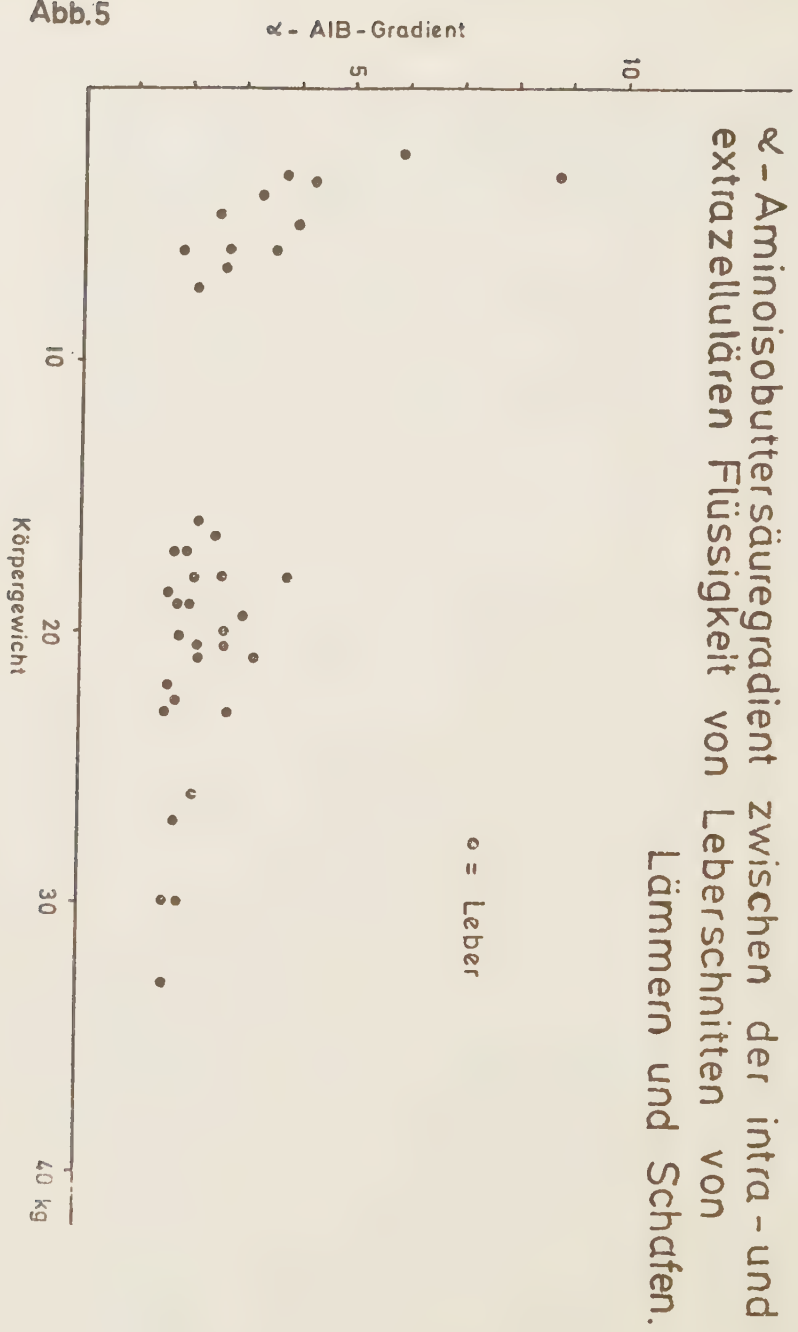
1) n = Anzahl der Tiere

Es zeigt sich, daß α - AIB sowohl in der Leber als auch in der Muskulatur bei Lämmern gegen ein höheres Konzentrationsgefälle transportiert wurde als bei Schafen. (Tabelle 6 / 7, Abbildungen 5 und 6).

Während der Extrazellulärraum der Leber keine Altersabhängigkeit erkennen läßt, ergab sich für die Kehlkopfmuskulatur bei den Schafen ein signifikant geringerer Extrazellulärraum als bei den Lämmern (Tabelle 6 und 7).

Vergleicht man den α - AIB-Transport von Leber und Muskulatur bei Schafen (Tabelle 6 und 7) so ergibt sich für die Leber ein höherer Gradient als für die Muskulatur ($p < 0,001$). Bei Lämmern unter 8 kg dagegen akkumulierten Leber und Muskel α - AIB annähernd in gleichem Umfang.

Abb.5



α -Aminoisobuttersäuregradient zwischen intra- und extrazellulärer Flüssigkeit von isolierten Kehlkopf-
muskeln von Lämmern und Schafen.

x = Muskeln

- 31 -
 α - AIB - Gradient

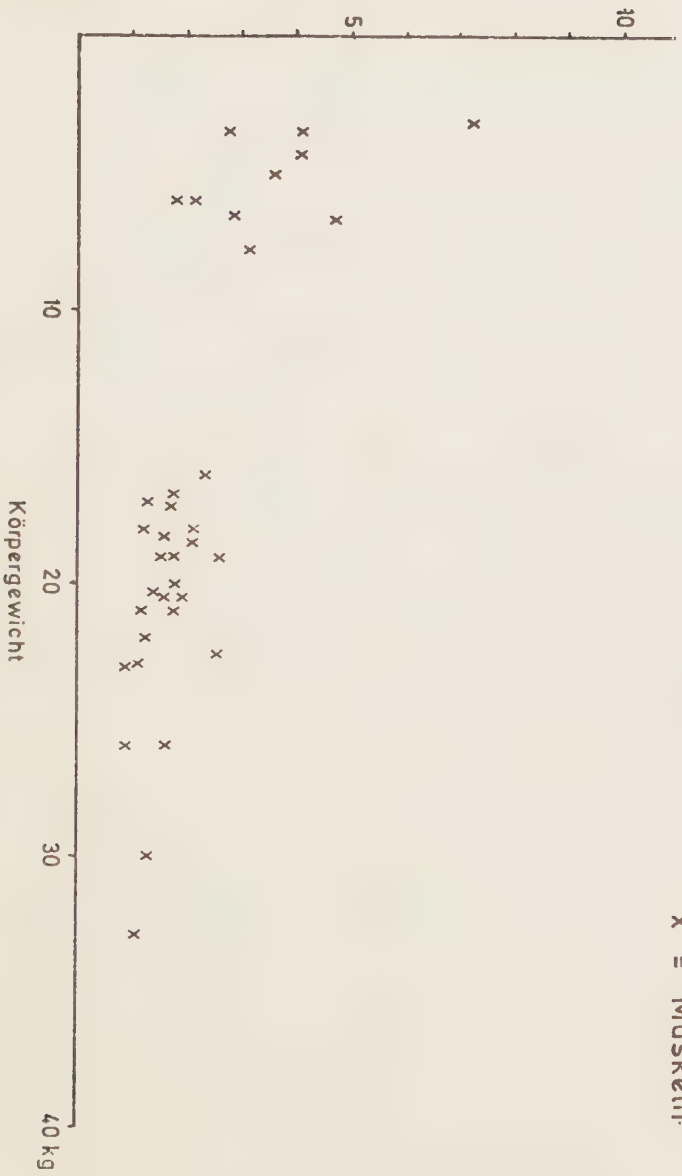


Abb. 6

C Beeinflussung des Aminosäuren-Transports in der Leber und Muskulatur durch die Ernährung

Die oben aufgeführten Ergebnisse gaben Anlaß, die Frage zu klären, ob die bei den Schafen im Vergleich zu den Lämmern für α - AIB zu registrierenden niedrigeren Konzentrationsgradienten zwischen der intra- und extrazellulären Flüssigkeit der Leberschnitte und isolierten Kehlkopfmuskeln ausschließlich altersbedingt sind oder mit der mit der Entwicklung des Vormagensystems einhergehenden Umstellung des Intermediärstoffwechsels in Zusammenhang stehen. Es wurden daher analoge Untersuchungen an gleichaltrigen Lämmern durchgeführt, die starke Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen. Dabei handelte es sich um 2 Versuchsreihen, in welchen jeweils die Hälfte der Tiere mit Milchaustauschfutter ("M") die andere Hälfte jedoch zusätzlich mit Heu und Kraftfutter ("HK") aufgezogen wurden (siehe auch Tiermaterial und Fütterung). Als Index für die Vormagenentwicklung diente das Naßgewicht der entleerten Vormägen (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8

Durchschnittliches Naßgewicht der Vormägen der Lämmer von 2 Fütterungsversuchen

	"M"- Lämmer	"HK"- Lämmer
Versuchsreihe I (8 bis 10 Wochen alt)	140 g $\pm$ 19	590 g $\pm$ 148
Versuchsreihe II (10 bis 12 Wochen alt)	162 g $\pm$ 25	457 g $\pm$ 110

Die den Transport von α - AIB in der Leber und Muskulatur betreffenden Ergebnisse dieser beiden Versuchsserien sind in den Abbildungen 7 und 9 dargestellt.

Da sich in keiner der beiden Versuchsserien für den α - AIB-Transport in die Leber und Muskulatur ein gesicherter Gruppenunterschied ergab, dürften die zwischen Lämmern und Schafen gefundenen diesbezüglichen Unterschiede (siehe Tabelle 6 und 7) nicht mit der Vormagenentwicklung in Zusammenhang stehen, sondern vor allem altersbedingt sein.

Vergleicht man in beiden Versuchsreihen den Aminosäuretransport von Leber und Muskulatur, so zeigt sich, daß sowohl bei den "HK"-Lämmern ($p < 0,01$) als auch bei den "M"-Lämmern ($p < 0,001$) von der Leber höhere α - AIB-Gradienten erreicht wurden als von der Muskulatur. Dieser Befund stimmt mit den bei den Schafen gefundenen Verhältnissen (siehe Tabelle 6 und 7) überein. Dagegen ergab sich bei den jungen Lämmern für die α - AIB-Aufnahme in die Leber- und Muskelzelle kein Unterschied (siehe Tabelle 6 und 7). Die diesbezügliche Diskrepanz zwischen Schafen und jungen Lämmern dürfte somit ebenfalls altersbedingt sein und nichts mit der mit der Vormagenentwicklung einhergehenden Stoffwechselumstellung zu tun haben.

Die Entwicklung des Vormagensystems hatte, wie aus den Abbildungen 8 und 10 hervorgeht, keinen Einfluß auf die Größe des Extrazellulärraums der Leberschnitte und Kehlkopfmuskeln.

Abb. 7 α - Aminoisobuttersäuregradient zwischen intra- und extrazellulärer Flüssigkeit von Leberschnitten und isolierten Kehlkopfmuskeln von mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) gefütterter Lämmer (Alter: 8-10 Wochen).

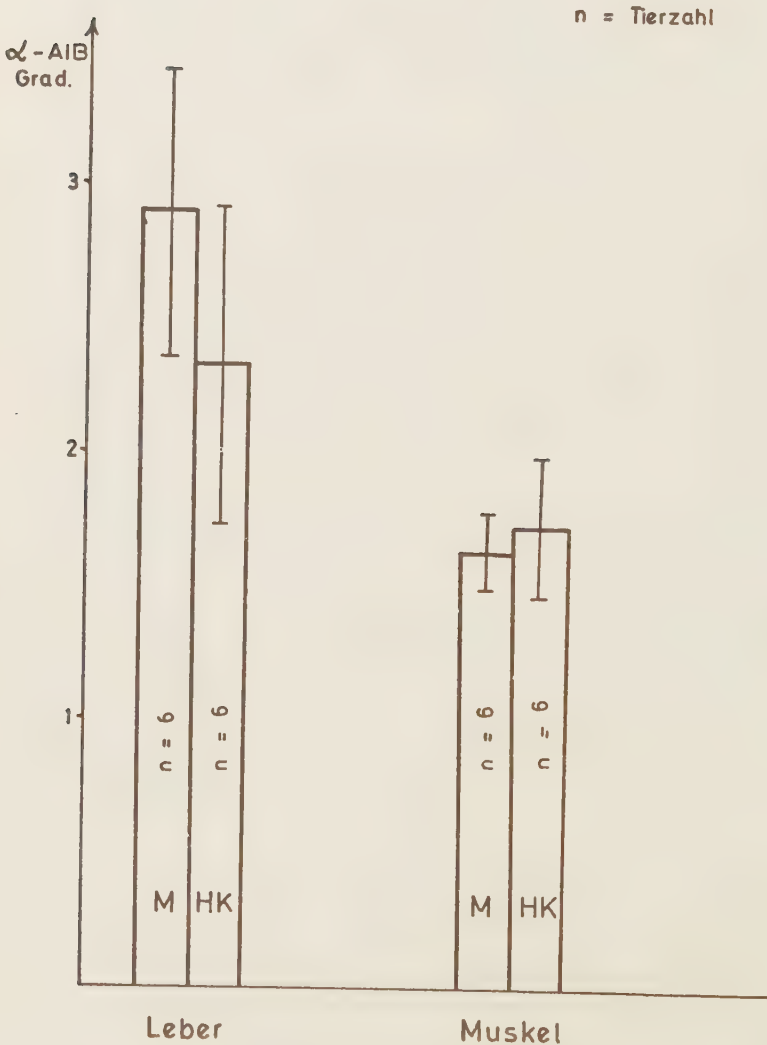


Abb.8 Extrazellulärraum von Leberschnitten und isolierten Kehlkopfmuskeln von mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) ernährten Lämmern (8-10 Wochen).

n = Anzahl der Leber-
schnitte bzw. Muskeln

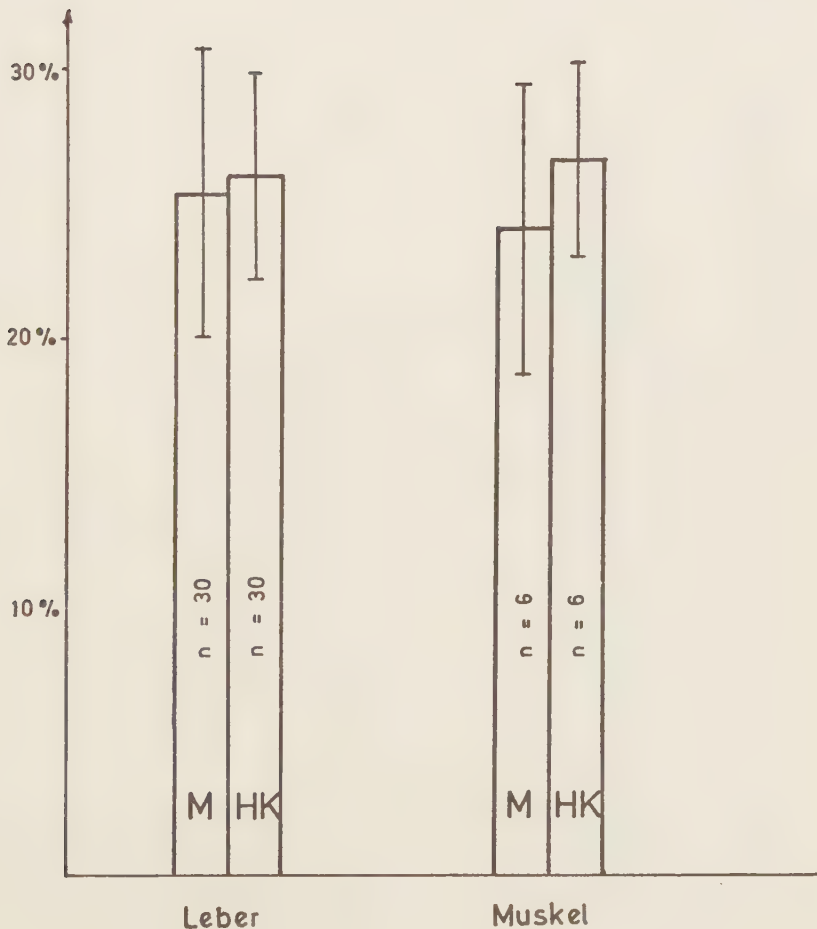
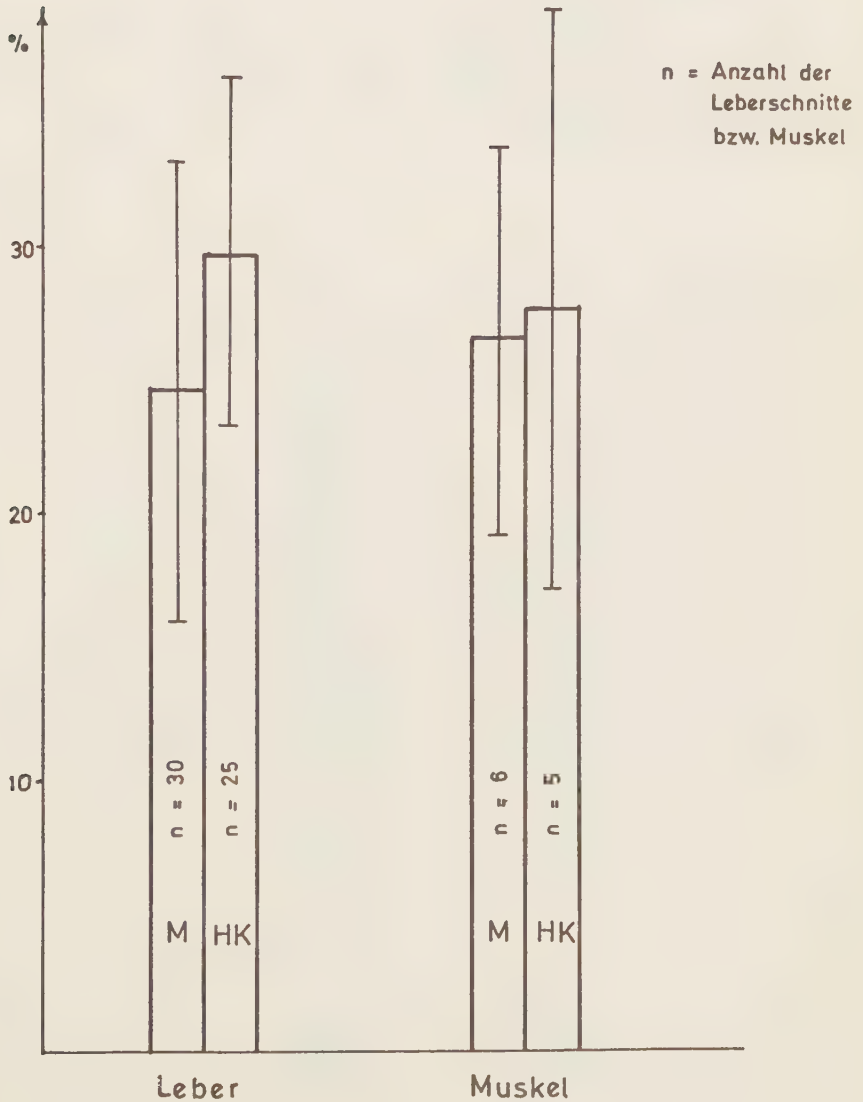


Abb.9 α - Aminoisobuttersäuregradient zwischen intra- und extrazellulärer Flüssigkeit von Leberschnitten und isolierten Kehlköpfen von mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) gefütterten Lämmern (Alter: 10-12 Wochen).



Abb.10 Extrazellulärraum von Leberschnitten und isolierten Kehlkopfmuskeln mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter gefütterten (HK) 10-12 Wochen alter Lämmer.



d) Beeinflussung des Aminosäuretransports in Leber und Muskulatur durch Stoffwechselhormone und cyclisches 3', 5'-AMP

Die Wirkstoffe wurden in den in Tabelle 4 angegebenen Konzentrationen dem Inkubationsmedium zugefügt.

Zur Kontrolle wurde jeweils die gleiche Anzahl von Leberschnitten beziehungsweise ein Muskel ohne den Wirkstoff inkubiert.

I n s u l i n

Die Zugabe dieses Stoffwechselhormons zum Inkubationsmedium führte weder beim erwachsenen Wiederkäuer noch bei der Ratte zu einer Veränderung des α -AIB-Transports der Leberzelle (Abbildung 11).

Im Gegensatz dazu war die α -AIB-Aufnahme in die Muskelzelle durch Insulin in vitro positiv zu beeinflussen. Dies trifft in etwas unterschiedlichem Maße für Lämmer mit entwickelten Vormägen ("HK"), beziehungsweise für Lämmer mit infolge verlängerter Milchfütterung hintangehaltener Vormagenentwicklung ("M") sowie für ganz junge Lämmer (Alter: maximal 1 Woche) zu. Die Abbildung 12 zeigt, daß mit fortschreitender Vormagenentwicklung die Insulinsensitivität des Aminosäuretransports der Muskelzelle von Lämmern geringer zu werden scheint.

Abb.11 Effekt von Insulin auf den α -Aminoisobuttersäuregradienten zwischen intra- und extrazellulärer Flüssigkeit von Leberschnitten von 5 Schafen (15-40 kg) und 2 Ratten.

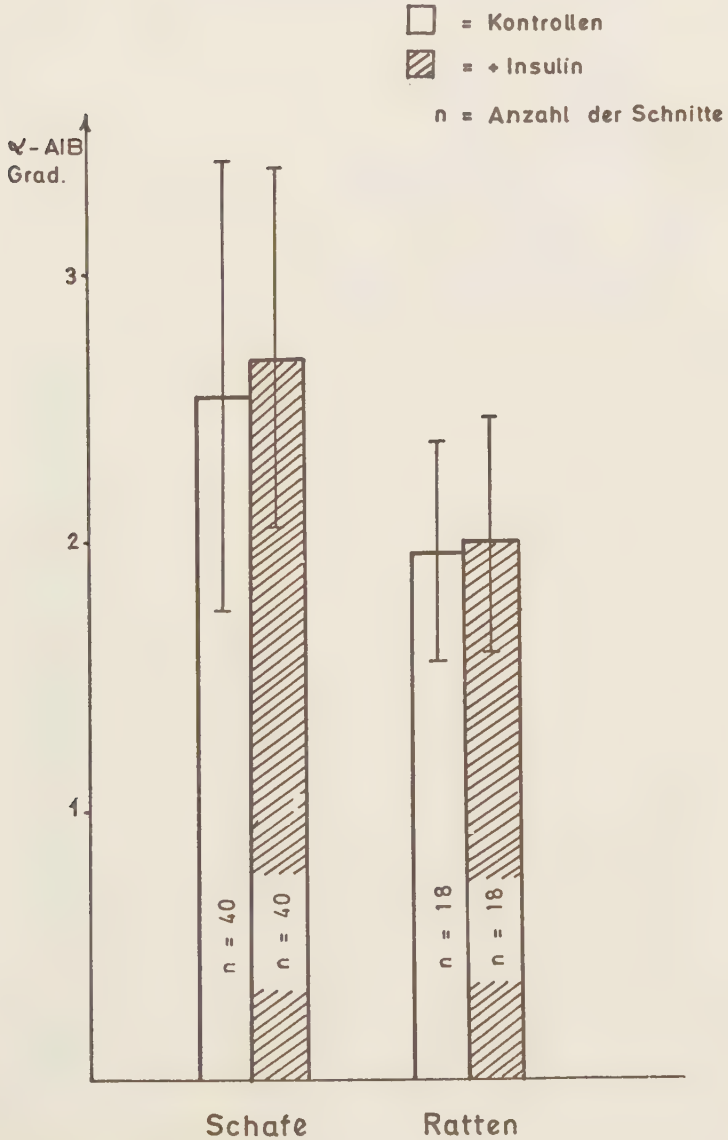
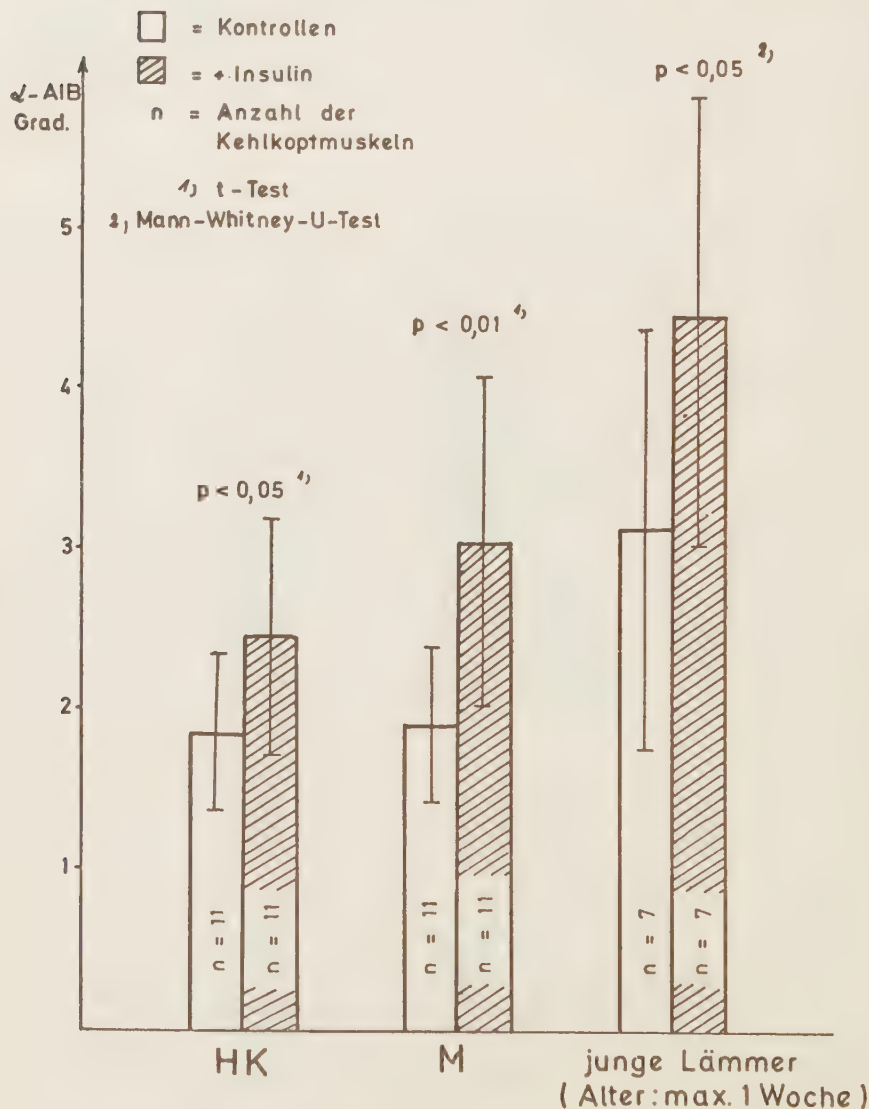


Abb.12 Effekt von Insulin auf den α -Aminoisobuttersäuregradienten zwischen intra- und extrazellulärer Flüssigkeit von isolierten Kehlkopfmuskeln von mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) gefütterten 8-12 Wochen alten Lämmern sowie jungen maximal 1 Woche alten Lämmern.



Glukagon und cycl. 3', 5' - A M P

Der Einfluß von Glukagon auf den Transport von Aminosäuren in der Leber wurde bei Ratten, jungen Lämmern, Schafen und Rehen untersucht.

Die Abbildung 13 zeigt, daß die Anwesenheit von Glukagon in Inkubationsmedium die α - Aminoisobuttersäureaufnahme in die Leberzelle der Patte nicht signifikant beeinflusste. Beim jungen Lamm unter 8 kg, das als funktionell monogastri-
sch bezeichnet werden kann, hatte Glukagon ebenfalls keinen Effekt auf den Transport von α - AIB in der Leber. Demgegenüber konnte bei Schafen (15 bis 40 kg Gewicht) mit voll entwickeltem Vormagensystem sowie bei einer zum Vergleich herangezogenen weiteren Wiederkäuerart, nämlich dem Reh, ein Glukagoneffekt registriert werden. Die Leberschnitte transportierten bei diesen Tieren in Gegenwart von Glukagon α - Aminoisobuttersäure gegen einen geringeren Konzentrationsgradienten als die entsprechenden ohne Glukagon inkubierten Kontrollschnitte.

Da Glukagon den α - AIB-Transport von Leberschnitten offensichtlich nur beim Schaf, nicht jedoch beim jungen Lamm hemmt, wurde in weiteren Versuchen geprüft, wie sich Glukagon bei Lämmern gleichen Alters, die auf Grund unterschiedlicher Fütterung große Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen (Gruppe M = Vormagensystem rudimentär, Gruppe HK = Vormagensystem entwickelt), auf den α - AIB-Transport der Leber auswirkt (siehe Abbildung 14).

Wie bereits an anderer Stelle erwähnt, führt man die in der Rattenleber durch Glukagon auslösbaren Stoffwechseleffekte (vor allem Stimulierung der Glykogenolyse und Gluconeogenese) auf die vermehrte Bildung von cyclischem

3', 5'-AMP zurück. Es interessierte daher zusätzlich, ob auch die Anwesenheit von cyclischem 3', 5'-AMP im Inkubationsmedium den α - AIB-Transport von Leberschnitten beeinflusst.

Aus der Abbildung 14 geht hervor, daß der hemmende Einfluß von Glukagon auf den Aminosäuretransport der Leber nur bei Gruppe "HK", nicht jedoch bei Gruppe "M" in Erscheinung trat. Die Tiere der Gruppe "M" ähneln somit in dieser Hinsicht den jungen Lämmern.

Wie aus Abbildung 14 weiter zu ersehen ist, bewirkte die Anwesenheit von cyclischem 3', 5'-AMP im Inkubationsmedium bei Gruppe "M" eine Steigerung der α - AIB-Aufnahme in die Leberzelle, während bei Gruppe "HK" kein Effekt auftrat. Daraus ist ersichtlich, daß sich der bei Schafen beziehungsweise den "HK"-Lämmern nachweisbare Hemmeffekt von Glukagon auf den α - AIB-Transport von Leberschnitten durch cyclisches 3', 5'-AMP nicht simulieren läßt.

Da zwischen Glukagon und Insulin in vielerlei Hinsicht ein funktioneller Antagonismus besteht, wurde in weiteren Versuchen an Leberschnitten von Schafen geprüft, ob Insulin den α - AIB-Transport in der Leber in Anwesenheit von Glukagon im Inkubationsmedium beeinflusst.

Aus der Abbildung 15 wird deutlich, daß die durch Glukagon bedingte Hemmung des α - Aminoisobuttersäuretransports von Leberschnitten durch Hinzufügung von Insulin zum Inkubationsmedium aufgehoben wird. Insulin vermag somit den α - AIB-Transport der Leber in Gegenwart von Glukagon zu stimulieren.

Wie aus Abbildung 16 hervorgeht, hemmt Glukagon bei Schafen und Rehen auch den α - AIB-Transport der quergestreiften Muskulatur.

Abb.13 Effekt von Glukagon auf den α -Aminoisobuttersäure-Gradienten zwischen intra- und extrazellulären Flüssigkeit von Leberschnitten bei 13 Ratten, 6 jungen Lämmern, 14 Schaten und 2 Rehen.

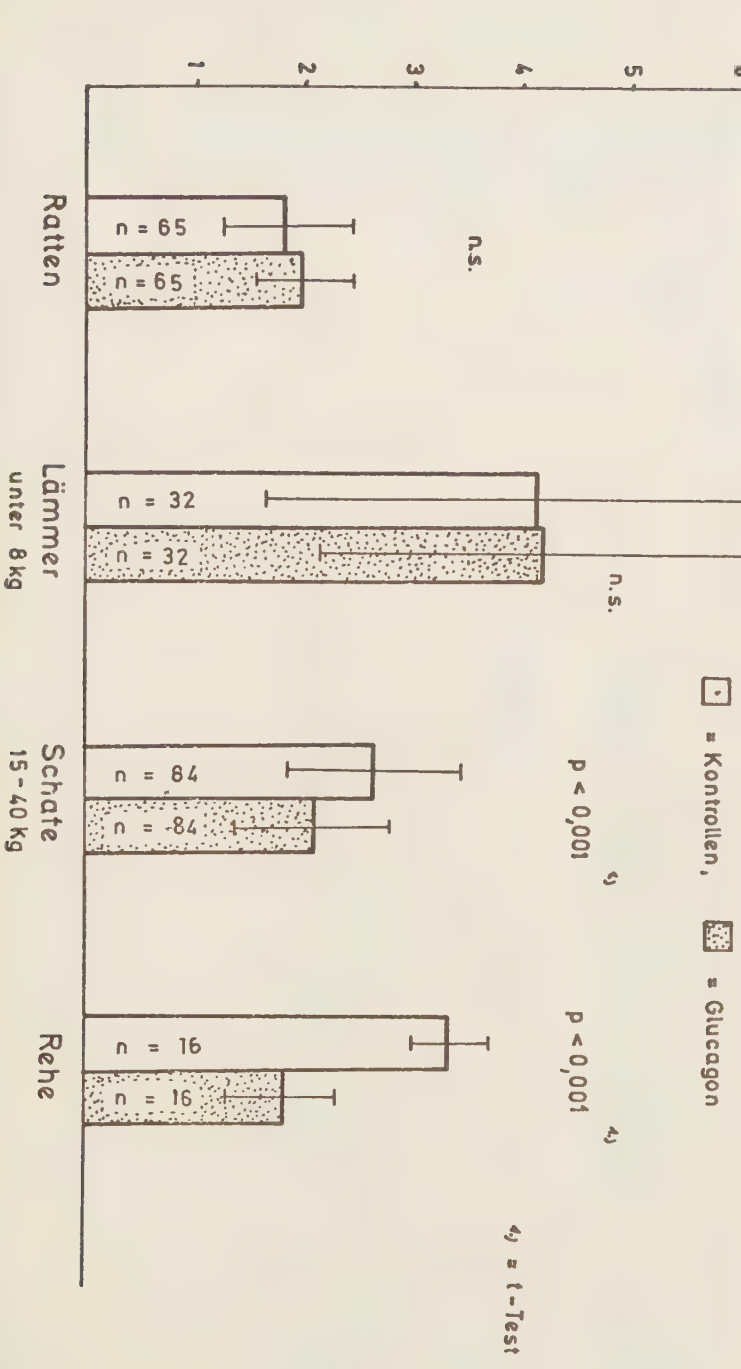


Abb.14 Effekt von Glukagon und cycl.3'5'AMP auf den α -Aminoisobuttersäuregradienten zwischen intra- und extrazellulärer Flüssigkeit von Leberschnitten von mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) gefütterten Lämmern (Alter: 10-12 Wochen).

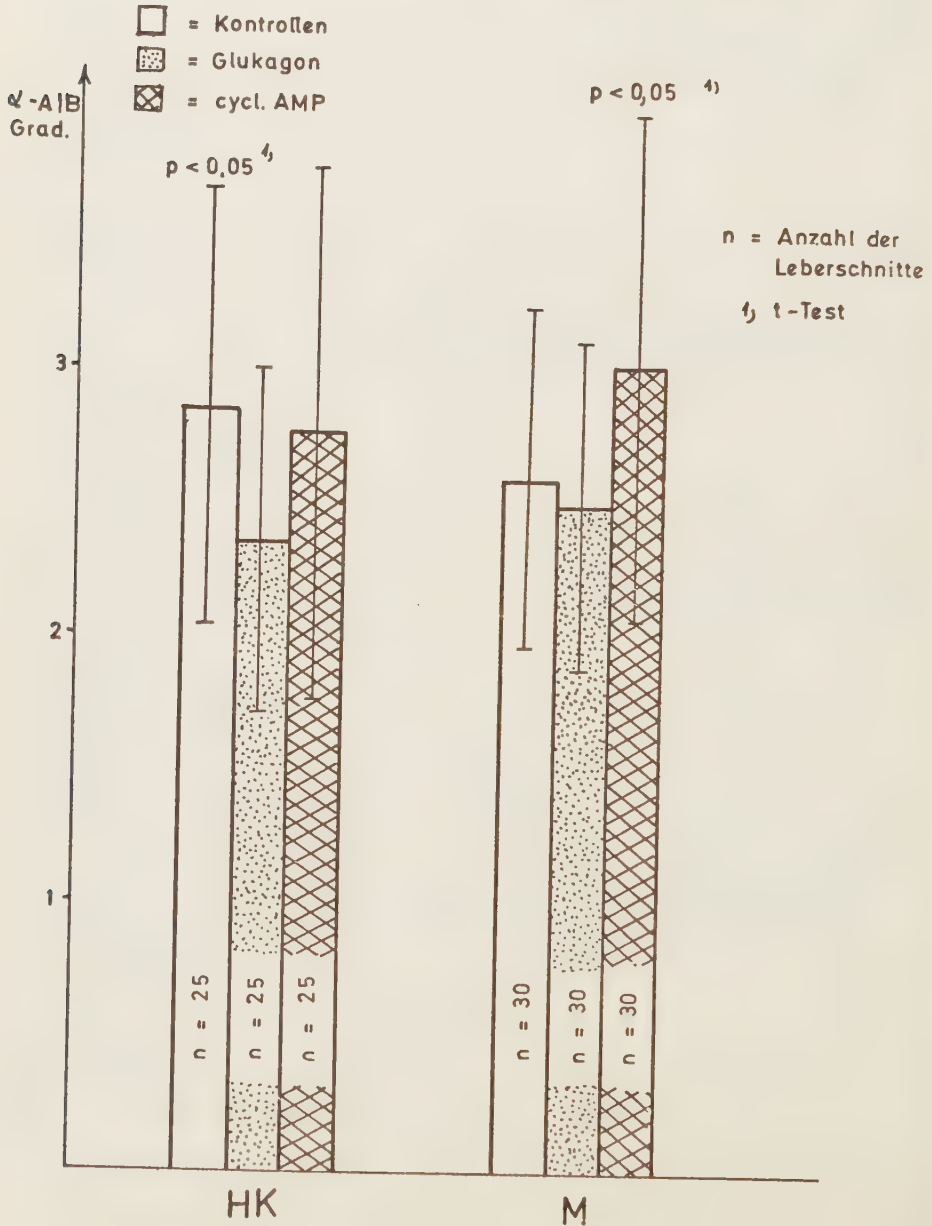


Abb.15

Effekt von Glukagon und Glukagon + Insulin auf den α -Aminoisobuttersäuregradienten zwischen intra- und extrazellulären Flüssigkeit von Leberschnitten von 5 Schafen (13-30 kg).

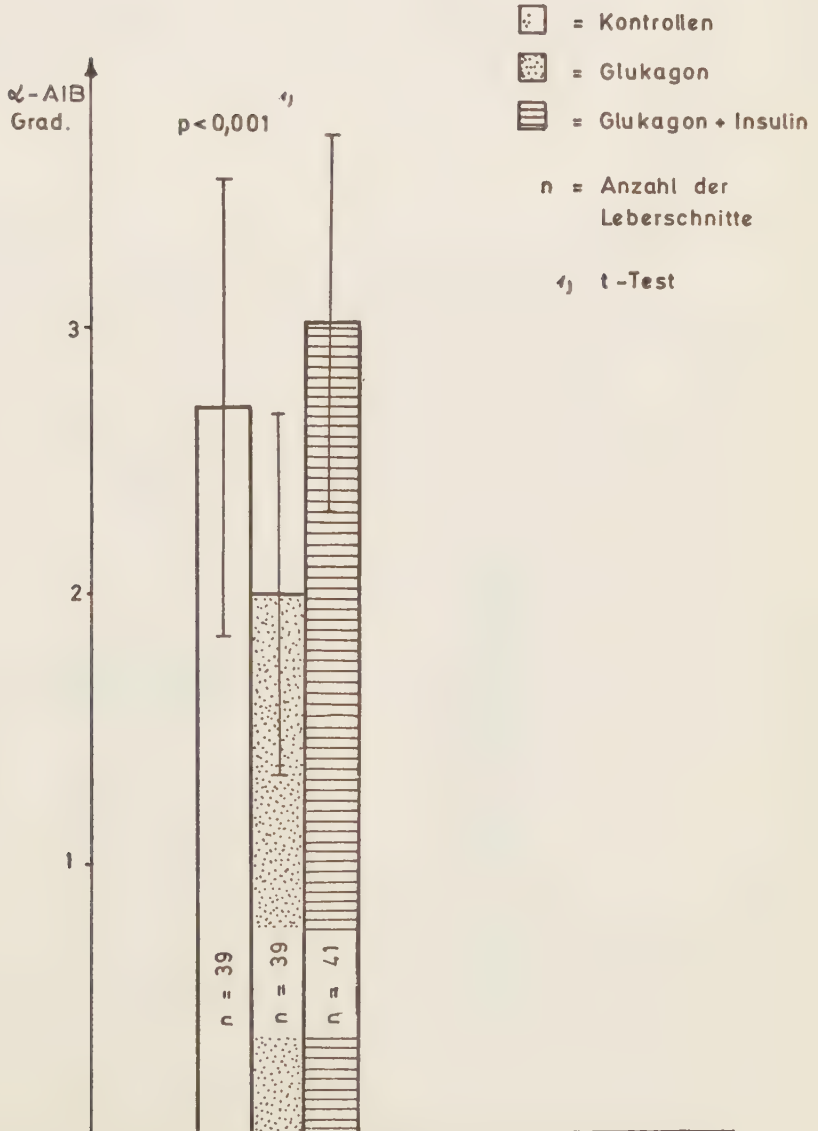
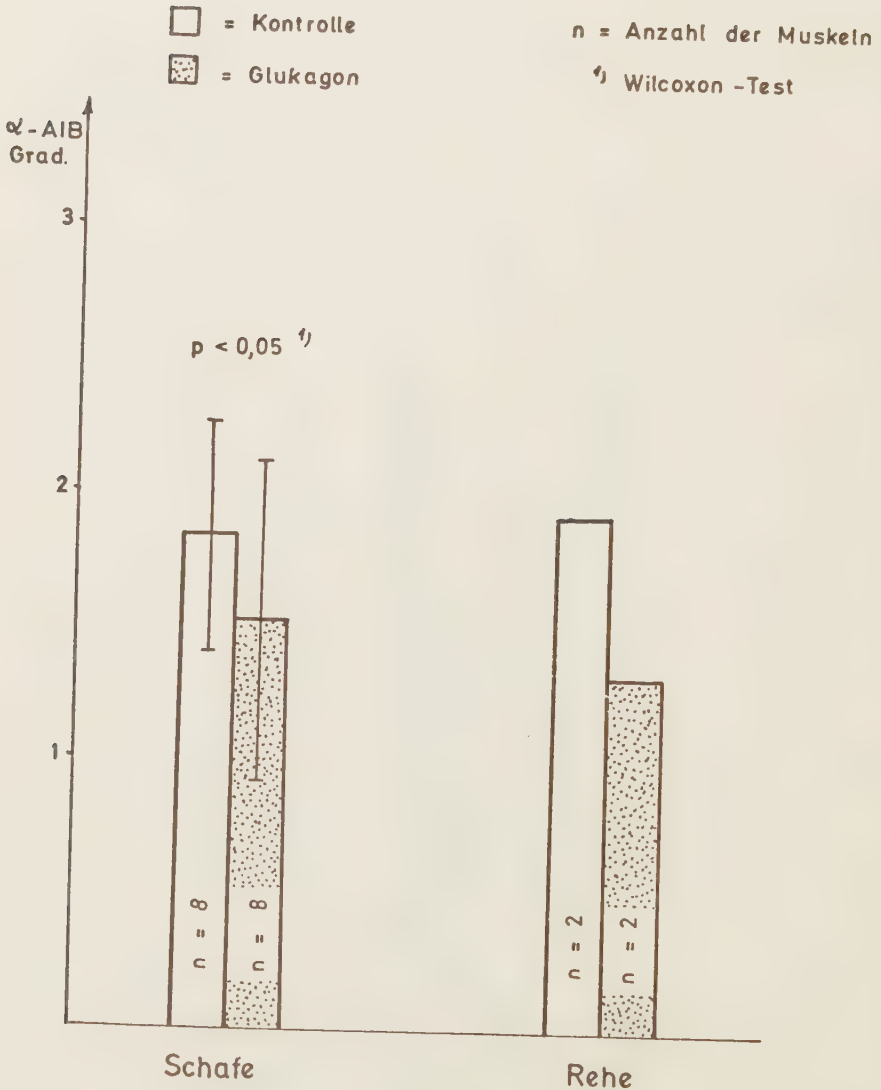


Abb.16 Effekt von Glukagon auf den α -Amino-isobuttersäuregradienten zwischen intra- und extrazellulärer Flüssigkeit von isolierten Kehlkopfmuskeln von 8 Schafen (13-30 kg) und 2 Rehen.



C o r t i s o n

Der Einfluß von Cortison auf den α -AIB-Transport der Leber wurde bei Schafen und Ratten untersucht. Es war festzustellen, daß dieses Hormon bei beiden Species einen positiven Effekt auf den α -AIB-Transport von Leberschnitten ausübte (Abbildung 17).

P r o l a c t i n

Beim Schaf scheint nach den vorliegenden Untersuchungen das HVL-Hormon Prolactin zu einer Hemmung des α -AIB-Transports in der Leberzelle zu führen (Abbildung 18). Der gleiche Effekt zeigte sich auch bei gleichaltrigen Lämmern, die starke Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen (Gruppe "M" und Gruppe "HK", Abbildung 19). Bei gemeinsamer statistischer Auswertung beider Gruppen ist der Prolactineffekt statistisch signifikant (Wilcoxon Test, $p < 0,05$).

Die α -AIB-Aufnahme von Rattenleberschnitten wurde, wie Abbildung 18 verdeutlicht, durch Prolactin nicht beeinflusst.

Am isolierten Kehlkopfmuskel von Schafen war ein signifikanter Effekt von Prolactin nicht nachweisbar (Abbildung 20).

Abb.17 Effekt von Cortison auf den α -Amino-isobuttersäuregradienten zwischen intra- und extrazellulärer Flüssigkeit von Leberschnitten von 6 Schafen (13-30 kg) und 8 Ratten.

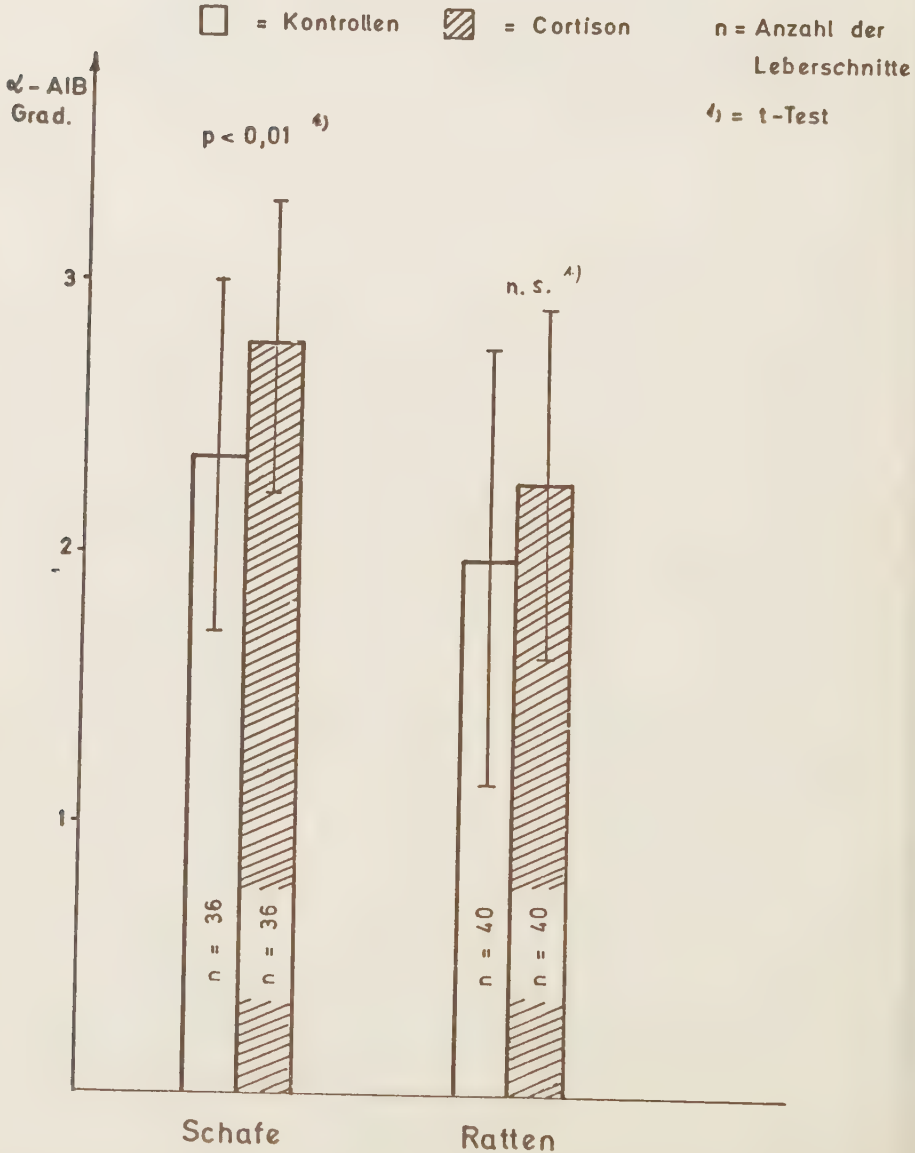
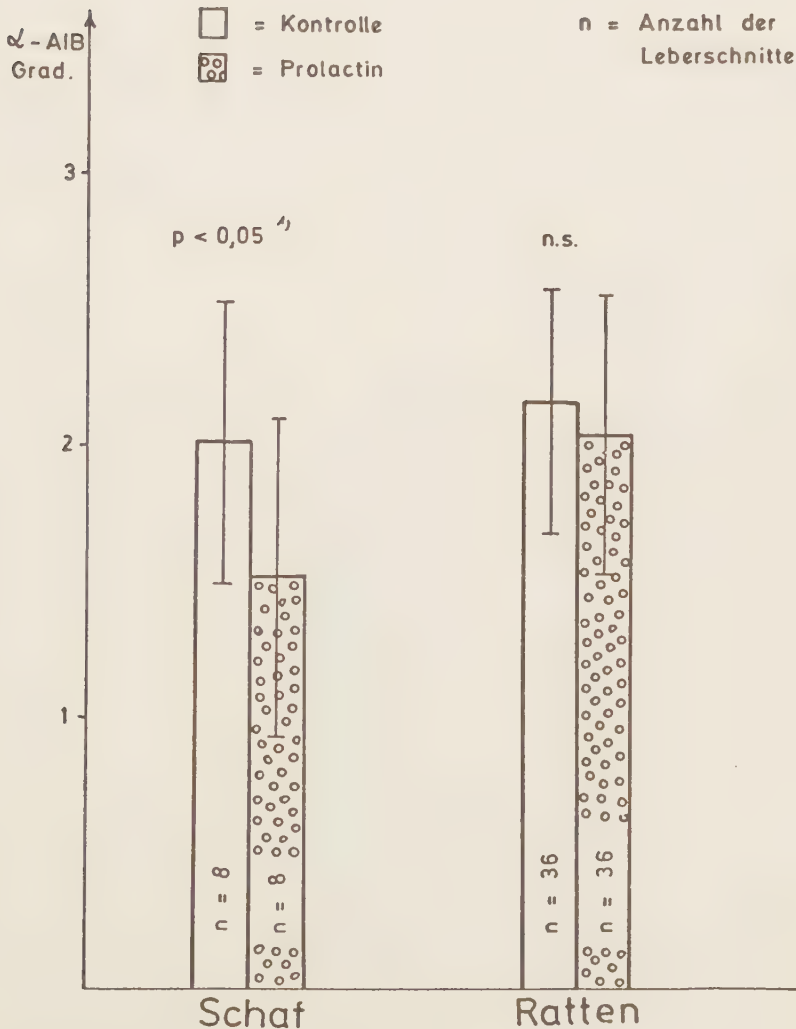


Abb.18 Effekt von Prolactin auf den α -Amino-
isobuttersäuregradienten zwischen intra-
und extrazellulärer Flüssigkeit von Leber-
schnitten bei einem Schaf (19 kg)
und 6 Ratten.



¹⁾ Mann-Whitney - U - Test

Abb.19

Effekt von Prolactin auf den α -Aminoisobuttersäuregradienten zwischen intra- und extrazellulärer Flüssigkeit von Leberschnitten von mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) gefütterten Lämmern (Alter: 10-12 Wochen).

n = Anzahl der Leberschnitte

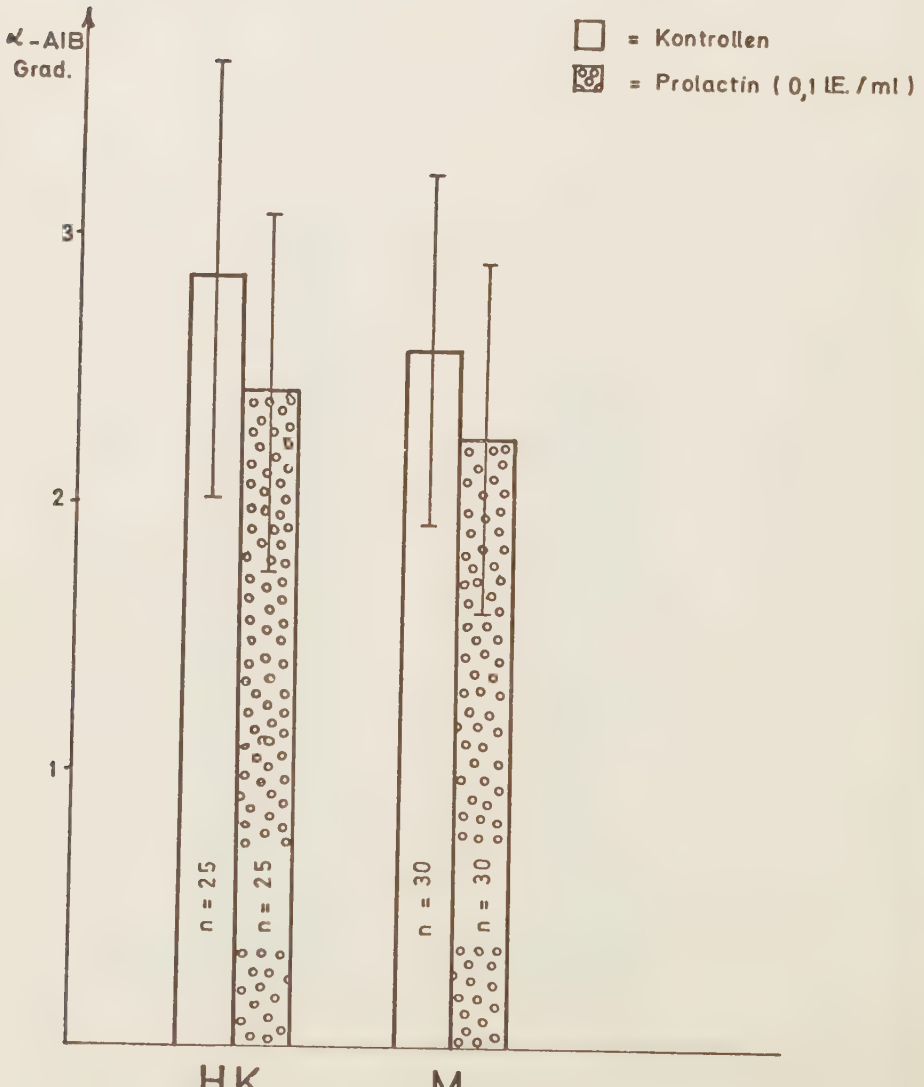
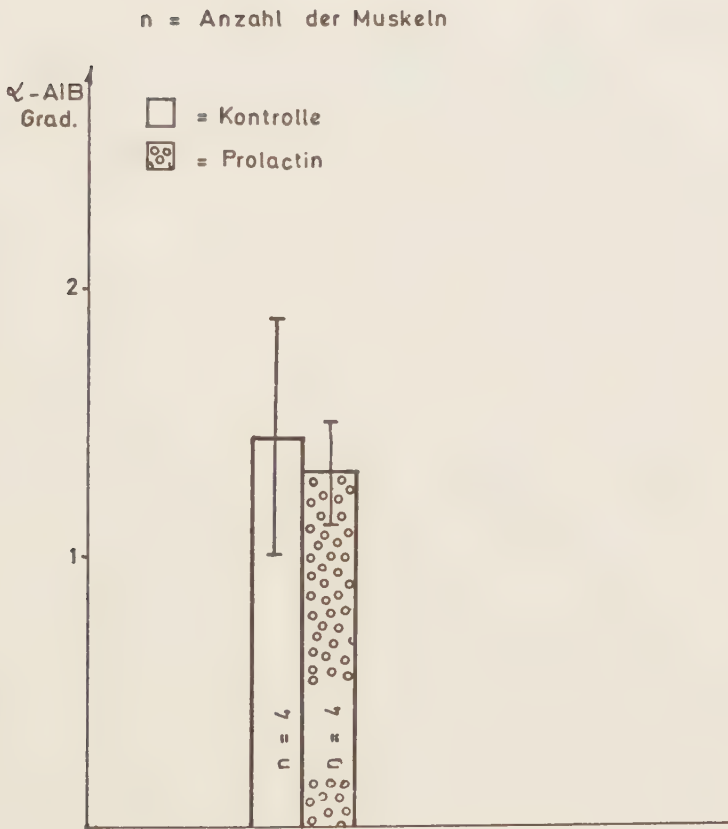


Abb. 20 Effekt von Prolactin auf den α -Amino-
isobuttersäuregradienten zwischen intra-
und extrazellulärer Flüssigkeit von Keh-
lkopfmuskeln von 4 Schafen (13-30 kg).



IV. Diskussion

1. Der aktive Transport von Aminosäuren in der Leber und Muskulatur in Abhängigkeit von Alter und Ernährung

Den Ergebnissen ist zu entnehmen, daß die Leber- und Muskelzelle beim jungen Lamm (1 bis 6 Tage alt) die nicht metabolisierbare Modellaminosäure α - Aminoisobuttersäure (= α - AIB) in vitro gegen ein höheres Konzentrationsgefälle akkumuliert als beim Schaf (2,5 bis 4 Monate alt). Dieser Unterschied dürfte nicht mit der Vormagenentwicklung in Zusammenhang stehen, sondern altersbedingt sein, da bei gleichaltrigen älteren Lämmern (Alter 2 bis 3 Monate), die, bedingt durch verschiedenartige Fütterung, ausgeprägte Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen, α - AIB im gleichen Umfang sowohl in die Leber- als auch in die Muskelzelle aufgenommen wurde.

Es ist ferner darauf hinzuweisen, daß für den gegen ein Konzentrationsgefälle erfolgenden Übertritt von α - AIB in die Leber- beziehungsweise Muskelzelle beim jungen Lamm etwa gleich hohe Werte erhalten wurden, während sich beim Schaf für die Muskulatur signifikant niedrigere Werte ergaben als für die Leber. Auch diese Diskrepanz ist altersbedingt, da bei gleichaltrigen Lämmern, die markante Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen, analoge Unterschiede zwischen Leber und Muskulatur gefunden wurden.

Es ist naheliegend, den Rückgang der α - AIB -Aufnahme in der Leber und Muskulatur mit dem mit fortschreitendem Alter sich verringernden Proteinansatzvermögen (53) in Verbindung zu bringen, zumal der Aminosäuretransport mit der Proteinsyntheserate korreliert zu sein scheint (46, 1).

Auch bei der Ratte wurde eine reziproke Beziehung zwischen dem Alter und dem Aminosäuretransport in der Leber (74) und Muskulatur (27) gefunden.

Worauf die altersbedingte Abnahme der Aminosäuretransportkapazität der Leber- und Muskelzellmembran allerdings im einzelnen beruht, ist unbekannt.

2. Der Aminosäuretransport in Leber und Muskulatur unter dem Einfluß von Stoffwechselhormonen

Der aktive Transport von Aminosäuren wird, wie zahlreiche Untersuchungen an Labortieren ergeben haben, durch Hormone reguliert (1, 14, 19, 23, 25, 26, 27, 30, 43, 50, 51, 52, 62, 63, 64, 73, 81). Beim jungen Wiederkäuer erfolgt mit der Entwicklung des Vormagensystems (9, 29) zum Teil auch eine Veränderung des Intermediärstoffwechsels (2, 3, 6, 7, 49, 55, 66, 68, 79, 80) sowie zum Teil auch des Hormonhaushaltes (5, 11, 13, 20, 36, 37, 47, 48, 59, 60, 61, 69, 70).

Wir haben daher in unseren Versuchen den Einfluß von Insulin und Insulinantagonisten (Glukagon, Cortison) auf den Aminosäuretransport in der Leber und Muskulatur beim Schaf in Abhängigkeit von der Vormagenentwicklung untersucht. Weder beim erwachsenen Schaf noch bei der Ratte, die vergleichsweise in diese Untersuchungen miteinbezogen wurde, konnte ein Insulineinfluß auf den α -AIB-Transport an Leberschnitten in vitro nachgewiesen werden.

Diese Ergebnisse widersprechen den in vivo an der Ratte (65) sowie an der perfundierten Rattenleber (14) erhobenen Befunden. Bei diesen Untersuchungen wurde unter dem Einfluß von Insulin ein deutlicher Anstieg der Ami-

nosäurenaufnahme in die Leberzelle festgestellt. In diesem Zusammenhang muß erwähnt werden, daß bei diesen Untersuchungen an der perfundierten Rattenleber dem Perfusat defibriniertes Blut beigelegt worden war. Möglicherweise entfaltet Insulin seine Wirkung lediglich in Gegenwart von Substanzen, die im defibrinierten Rattenblut enthalten sind. In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen wurde auch von Crawhall und Purkiss (19) kein Einfluß von Insulin auf den Aminosäuretransport von Rattenleberschnitten festgestellt. Dagegen ergab sich in unseren Untersuchungen an Leberschnitten von Schafen in Gegenwart von Glukagon im Inkubationsmedium ein deutlicher Insulineffekt auf die α -AIB-Aufnahme der Leberzellen. An Rattenleberschnitten wurden derartige Versuche nicht durchgeführt. Diese Ergebnisse zeigen somit, daß zumindest beim Schaf nur unter ganz bestimmten Milieubedingungen Insulin die α -AIB-Aufnahme in die Leberzelle stimuliert.

An isolierten Kehlkopfmuskeln von Schafen und Lämmern stimulierte in unseren Versuchen Insulin die α -AIB-Aufnahme in die Muskelzelle. Dieser Befund deckt sich mit entsprechenden Beobachtungen am isolierten Rattenzwerchfell (27, 46, 63) sowie am M. levator ani der Ratte (1). Nach Riggs (63) beeinflußt Insulin lediglich ein Aminosäuretransportsystem der Muskelzellenmembran, das sogenannte A-System, dem gegenüber α -AIB eine hohe Affinität aufweist. Er vermochte zu zeigen, daß 95 % der α -AIB über dieses System in die Muskelzelle gelangen. Ein weiteres, Na^+ unabhängiges und durch Insulin nicht beeinflussbares L-System transportierte nur 5 % der α -AIB in die Muskelzelle des Rattenzwerchfells.

Besonders zu erwähnen ist, daß Insulin in unseren Versuchen die α -AIB-Aufnahme in die Muskelzelle bei jungen

Lämmern (Alter 1 bis 6 Tage) stärker zu stimulieren schien als bei Schafen mit voll entwickeltem Vormagensystem. Da sich ein analoger Unterschied zwischen gleichaltrigen Lämmern (Alter 2 bis 3 Monate) die entweder mit Milch oder Heu und Kraftfutter ernährt worden waren, andeutete, geht die Insulinsensitivität des Aminosäuretransports in der Muskulatur wahrscheinlich mit fortschreitender Vormagenentwicklung zurück. Gleiches trifft für den durch Insulininjektion auslösbaren Blutzuckerabfall zu (60, 70).

Die Anwesenheit von Glukagon im Inkubationsmedium hatte in unseren Versuchen eine Hemmung der α - AIB-Aufnahme in die Leber- und Muskelzelle bei Schafen beziehungsweise Lämmern mit voll entwickeltem Vormagensystem zur Folge. Für gleichaltrige milchernährte Lämmer mit rudimentären Vormägen war dies, was die Leber anbetrifft, nicht der Fall. In gleicher Weise war bei jungen Lämmern (Alter 1 bis 6 Tage) durch Zugabe von Glukagon zum Inkubationsmedium keine Hemmung des Aminosäuretransports in der Leber zu verzeichnen. Der Einfluß von Glukagon auf den α - AIB-Transport der Muskulatur wurde bei Lämmern mit rudimentärem Vormagensystem nicht untersucht.

Der Hemmeffekt von Glukagon auf die α - AIB-Aufnahme der Leberzelle beim Schaf überrascht, da in entsprechenden Versuchen an Rattenleberschnitten entweder ein positiver (75) oder kein (19) Glukagoneffekt nachweisbar war.

Auch in eigenen Versuchen beeinflusste Glukagon die α - AIB- Aufnahme in die Leberzelle bei Lämmern mit rudimentärem Vormagensystem nicht.

Eine Hemmung der Aminosäureaufnahme in die Muskelzelle durch Glukagon, wie sie in unseren Versuchen beim Schaf nachgewiesen wurde, war bislang lediglich am Herzmuskel

des Kaninchens beobachtet worden (30).

Da Glukagon sowohl in der Leber als auch in der Muskulatur die Proteolyse stimuliert, die Proteinsynthese jedoch hemmt (10, 42, 45.) könnte man sich vorstellen, daß Membranproteine, die am Aminosäuretransport beteiligt sind durch Glukagon entsprechend beeinflußt werden. Eine beschleunigte Proteolyse oder eine verzögerte Synthese dieser Proteine könnte sich negativ auf den Aminosäuretransport auswirken.

Es ist bekannt, daß der Aminosäuretransport der Leberzelle auf die Anwesenheit von Na^+ -Ionen im Inkubationsmedium angewiesen ist (4, 18, 24, 71, 77). Da Glukagon den Transport monovalenter Kationen durch die Leberzellmembran zu beeinflussen scheint, könnte der Hemmeffekt von Glukagon auf den α -AIB-Transport der Leber unter Umständen auch darauf zurückzuführen sein.

Die stimulierende Wirkung von Glukagon auf die Glykogenolyse und Gluconeogenese der Leber wird von den meisten Autoren der Bildung von cyclischem 3', 5'-AMP zugeschrieben (12, 25). Es interessierte daher, wie sich die Zugabe von cyclischem 3', 5'-AMP zum Inkubationsmedium auf die α -AIB-Aufnahme der Leberzelle auswirkte.

Cyclisches 3', 5'-AMP stimulierte in diesen Versuchen die α -AIB-Aufnahme in die Leber lediglich bei den milchernährten Lämmern, während bei gleichaltrigen mit Heu und Kraftfutter ernährten Lämmern kein Effekt auftrat. Diese Ergebnisse zeigen, daß sich der negative Einfluß von Glukagon auf die α -AIB-Aufnahme der Leber beim Schaf beziehungsweise Lamm mit entwickeltem Vormagensystem durch cyclisches 3', 5'-AMP nicht simulieren läßt.

In Gegenwart von Cortison im Inkubationsmedium war sowohl für die Leber des Schafes mit voll entwickeltem Vormagen-

system als auch für die Leber der Ratte eine Steigerung der α - AIB-Aufnahme in vitro zu verzeichnen. Diese Ergebnisse decken sich mit denjenigen anderer Autoren (14, 62).

Da Aminosäureninfusionen (38) beim Schaf einen Anstieg des Serumprolactinspiegels zur Folge haben, war von Interesse, ob Prolactin den Aminosäuretransport in der Leber und Muskulatur beeinflusst. Es gelang im Verlauf dieser Untersuchungen festzustellen, daß Prolactin bei gleichaltrigen Lämmern (Alter 2 bis 3 Monate) mit entwickeltem, beziehungsweise mit rudimentärem Vormagensystem eine geringgradige Hemmung der α - AIB-Aufnahme in die Leber bewirkt. An Leberschnitten von Ratten sowie am Kehlkopfmuskel vom Schaf ließ sich kein entsprechender Effekt nachweisen. Die Klärung der Frage, ob dieser Prolactineffekt unter physiologischen Bedingungen von Bedeutung ist, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

V. Zusammenfassung

In in vitro-Versuchen an Leberschnitten sowie an isolierten Kehlkopfmuskeln von Schafen wurde untersucht, wie sich Alter, Vormagenentwicklung sowie Hormone auf die Aufnahme der nichtmetabolisierbaren Modellaminosäure α - Aminoisobuttersäure (α - AIB) in die Leber- und Muskelzelle auswirken.

Es wurden folgende Befunde erhoben:

- 1.) Die gegen ein Konzentrationsgefälle erfolgende Aufnahme von α - AIB in die Leber- und Muskelzelle war bei jungen Lämmern (Alter 1 bis 6 Tage) höher als bei Schafen (Alter 2,5 bis 4 Monate). Dieser Unterschied ist altersbedingt und hat nichts mit der unterschiedlichen Vormagenentwicklung zu tun, da sich bei gleichaltrigen Lämmern (Alter 2 bis 3 Monate), die auf Grund verschiedenartiger Fütterung (Milchfütterung beziehungsweise Fütterung von Heu und Kraftfutter) deutliche Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen, keine derartigen Gruppendifferenzen ergaben.
- 2.) Bei jungen Lämmern (Alter 1 bis 6 Tage) akkumulierte α - AIB in der Leber- und Muskelzelle in gleichem Umfange gegen ein Konzentrationsgefälle, während bei Schafen und älteren Lämmern (Alter 2 bis 3 Monate), unabhängig von der Vormagenentwicklung, für die Akkumulation von α - AIB in der Leberzelle höhere Werte erhalten wurden, als dies für die Muskelzelle der Fall war.
- 3.) Die Zugabe von Insulin zum Inkubationsmedium wirkte sich weder beim Schaf noch bei der Ratte auf die α - AIB Aufnahme der Leberzelle aus. Einen positiven Einfluß übte Insulin auf den α - AIB-Transport im Muskel bei Lämmern

und Schafen aus. Dieser Effekt schien sich mit fortschreitender Vormagenentwicklung zu verringern.

4.) Durch Zugabe von Glukagon zum Inkubationsmedium kam es bei Schafen beziehungsweise Lämmern (Alter 2 bis 3 Monate) mit entwickeltem Vormagensystem zu einer Hemmung des α -AIB-Transports in Leber und Muskulatur. Bei gleichaltrigen Lämmern (Alter 2 bis 3 Monate) mit rudimentärem Vormagensystem sowie bei jungen Lämmern (Alter 1 bis 6 Tage) hatte Glukagon keinen Effekt auf den Aminosäuretransport der Leber.

5.) Die Anwesenheit von cyclischem 3', 5'-AMP im Inkubationsmedium führte bei Lämmern mit voll ausgebildeten Vormägen zu keinem, bei gleichaltrigen Lämmern mit rudimentär gebliebenen Vormägen dagegen zu einem positiven Effekt auf den α -AIB-Transport der Leber.

6.) Die Zugabe von Cortison zum Inkubationsmedium hatte eine Steigerung des aktiven Transports von α -AIB zur Folge. Das konnte an Leberschnitten von Schafen und Ratten festgestellt werden.

7.) Die Zugabe von Prolactin zum Inkubationsmedium hemmte bei Lämmern, unabhängig von der Vormagenentwicklung, den α -AIB Transport in der Leber. Für die Muskulatur von Schafen und die Leber von Ratten konnte kein derartiger Effekt nachgewiesen werden.

Aus diesen Ergebnissen läßt sich folgern, daß die Effekte von Hormonen auf den Aminosäuretransport der Leber- und Muskelzelle zum Teil von der Vormagenentwicklung abhängig sind.

V. Summary

The effect of age and forestomach development upon uptake of the nonmetabolizable model amino acid α -aminoisobutyric acid (α -AIB) by the liver and muscle cell was investigated in sheep using liver slices and isolated larynx muscles.

The following results were obtained:

- 1.) The uptake of α -AIB against a concentration gradient into the liver and muscle cell in young lambs (age: 1-6 days) exceeded that of sheep (age: 2,5-4 months). This difference is caused by age and has nothing to do with the different forestomach development, since there was no such group difference between lambs of the same age (age: 2-3 months), which because of different feeding (milk versus hay and concentrate) showed a large difference in forestomach development.
- 2.) In young lambs (age: 1-6 days) α -AIB accumulated in the liver and muscle cell to the same extent against a concentration gradient, while in sheep and older lambs (age: 2-3 months), independent of forestomach development, α -AIB-accumulation was higher in the liver cell as compared to the muscle cell.
- 3.) The addition of insulin to the incubation medium remained without effect on α -AIB-uptake by the liver cell in sheep and rats. α -AIB-uptake by muscle was increased by insulin in lambs and sheep. This effect appeared to regress with advancing forestomach development.
- 4.) Addition of glucagon to the incubation medium caused an inhibition of α -AIB-transport in liver and muscle of lambs (age: 2-3 months) and sheep with well develo-

ped forestomach system. Both in lambs of the same age (2 - 3 months) with rudimentary forestomachs and in young lambs (age: 1 - 6 days) glucagon did not affect α - AIB-transport in liver.

5.) The presence of cyclic 3', 5' AMP in the incubation medium did not change α - AIB-transport in the liver of lambs with fully developed forestomachs in contrast to lambs of the same age with rudimentary forestomachs, where cyclic 3', 5' AMP stimulated α - AIB-transport in the liver.

6.) Addition of cortison to the incubation medium was associated with an enhancement of α - AIB-transport in the liver in sheep and rats.

7.) Addition of prolactin to the incubation medium inhibited α - AIB-transport in the liver of lambs, independent of forestomach development. For muscle of sheep and rat liver such an effect could not be demonstrated.

Among other things, it is concluded from these results, that effects of hormones upon amino acid transport by the liver and muscle cell in part depend on forestomach development.

VI. Literaturverzeichnis

1. Adolfson, S., A. Arvill, K. Åhrén,
Stimulation by insulin of accumulation and
incorporation into protein of L- (H^3)-pro-
line in the intact levator ani muscle from
the rat.
Biochim. Biophys. Acta 135, 176 (1967)
2. Annison, E. F., D. B. Lindsay, R. R. White,
Metabolic interrelations of glucose and
lactate in sheep.
Biochem. J. 88, 243 (1963)
3. Armstrong, D. G., D. E. Beever,
Postabomasal digestion of carbohydrate in
the adult ruminant.
Proc. Nutr. Soc. 28, 121 (1969)
4. Barnabei, O., P. Lylv, V. Tomasi, E. Tria, A. Trevisiani,
A study of the hormonal control in vitro
of Na^+ - K^+ activated ATP ase.
Adv. Enzyme Reg. 11, 273 (1973)
5. Basset, J. M.,
The influence of cortisol on food intake
and glucose metabolism in sheep.
J. Endocrin. 26, 539 (1963)
6. Bergmann, E. N., W. E. Roe, K. Kon,
Quantitative aspects of propionate metabo-
lism. and gluconeogenesis in sheep.
Am. J. Physiol. 211, 793 (1966)
7. Bergmann, E. N., M. L. Katz, L. Kaufmann,
Quantitative aspects of hepatic and portal
glucose metabolism and turnover in sheep.
Am. J. Physiol. 219, 785 (1970)
8. Bray, G. A.,
A. simple liquid scintillator for counting
aqueous solutions in al liquid scintilla-
tion counter.
Ann. Biochem. 1, 279 (1960)
9. Bronsch, K., H. Drepper,
Zur Frage der Eiweißüberfütterung bei Rind
und Schwein.
Tierärztl. Umschau, 2, 297 (1958)
10. Brown, C. B., C. Morton,
Control of rat liver aromatic amino acid
transaminases by glucagon and insulin.
Endocrinology 84, 381 (1969)

11. Bush, I. E., K. A. Ferguson,
The secretion of the adrenal cortex in
sheep.
J. Endocrin, 10, 1 (1953)
12. Butcher, R. W., G. A. Robison, E. W. Sutherland,
Cyclic AMP and hormon action. Biochemical
actions of hormones II.
Edited by Gerald Litwack.
Acad. Press, New York and London, S. 21
(1972)
13. Call, I. L., G. E. Mitchell jun., D. G. Ely, C. O.
Little, R. E. Tacker,
Amino acids, volatile fatty acids and glu-
cose in plasma of insulin treated sheep.
J. Anim. Sci. 34, 767 (1972)
14. Chambers, J. W., R. H. Georg, A. D. Bass,
Effect of hydrocortisone and insulin on
uptake of ~~α~~ - aminoisobutyric acid by
isolated perfused rat liver.
Mol. Pharmacol. 1, 66 (1965)
15. Christensen, H. N., A. J. Streicher,
Association between rapid growth and
elevated cell concentrations of amino acids
J. Biol. Chem. 175, 95 (1948)
16. Christensen, H. N., J. B. Clifford,
Early postnatal intensification of hepatic
accumulation of amino acids.
J. Biol. Chem. 238, 1748 (1963)
17. Christensen, H. N.,
On the development of amino acid transport
systems.
Federation Proc. 32, 19 (1973)
18. Crawhall, J. C., M. G. Davis,
Further studies of the transport of amino
acids in rat liver slices.
Biochim. Biophys. Acta 225, 326 (1971)
19. Crawhall, J. C., P. Purkiss,
Transport of methionine and proline by rat
liver slices and the effect of certain hor-
mones.
Biochem. J. 136, 15 (1973)
20. Davis, S. L.,
Plasma levels of prolactin, growth hormone
and insulin in sheep following the infusion
of arginine, leucine and phenylalanine.
Endocrinology 91, (2), 549 (1972)

21. Downie, N. M., R. W. Heath,
Basic statistical methods.
Harper & Brothers, publishers,
New York, Seite 132 (1959)
22. Durand, B., L. Blondel, L. Gieradier, B. Jeanrenaud,
 α - Aminoisobutyric acid uptake by
cultured beating heart cells.
Biochim. Biophys. Acta 255, 462 (1972)
23. Elsas, L. J., I. Albrecht, L. E. Rosenberg,
Insulin stimulation of amino acid uptake
in rat diaphragm.
J. Biol. Chem. 243, 1846 (1968)
24. Emmelot, P., C. J. Bos,
Adenosintriphosphatase in the cell-membrane
fraction from rat liver.
Biochim. Biophys. Acta 58, 374 (1962)
25. Exton, J. H., C. R. Park,
Control of gluconeogenesis in liver
II. Effects of glucagon, catecholamines
and adenosine 3', 5' monophosphate on
gluconeogenesis in the perfused rat liver.
J. Biol. Chem. 243, 4189 (1968)
26. Florey, E.,
Lehrbuch der Tierphysiologie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart, S. 547
(1970)
27. Fricke, R., C. M. Clark jun.,
Augmentation of glucose and amino acid up-
take by insulin in the deloping rat dia-
phragm.
Am. J. Physiol. 224, 117 (1973)
28. Gazzola, G. C., R. Franchi, V. Saibene, P. Ronchi,
G. G. Guidotti,
Regulation of amino acid transport in
chick embryo heart cells
1. Adaptive system of mediation for neutral
amino acids.
Biochim. Biophys. Acta 266, 407 (1972)
29. Giesecke - Henderickx,
Biologie und Biochemie der mikrobiellen
Verdauung.
BLV-Verlagsgesellschaft
München - Bern - Wien, S. 168 (1973)

30. Hait, G., J. Kypson, R. Massih,
Amino acid incorporation into myocardium,
effect of insulin, glucagon and dibutyryl
3', 5' AMP
Am. J. Physiol. 222, 404 (1972)
31. Heinz, E.,
The exchangeability of glycine accumulated
by carcinoma cells.
J. Biol. Chem. 225, 305 (1957)
32. Heinz, E.,
Kinetic studies on the "influx" of glucine
1 - C¹⁴ into Ehrlich mouse ascites carci-
noma cells.
J. Biol. Chem. 228, 97 (1957)
33. Heinz, E., P. M. Walsh,
Exchange diffusion, transport and intra-
cellular level of amino acids in Ehrlich
ascites carcinoma cells.
J. Biol. Chem. 233, 1488 (1958)
34. Heinz, E.,
Aktiver Transport von Aminosäuren, in:
Biochemie des aktiven Transports
12. Colloquium der Gesellschaft für Physiol.
Chemie, 1961, Moosbach, Baden.
Springerverlag Berlin, Göttingen, Heidel-
berg, S. 168 (1961)
35. Heinz, E.,
Transport through biological membranes.
Annual Rev. of Physiol. 29 (1967)
36. Hertelendy, F., L. Machlin, D. M. Kipnis,
Further studies on the regulation of insu-
lin and growth hormone secretion in sheep.
Endocrinology 84, (2), 192 (1969)
37. Horino, M., J. L. Machlin, F. Hertelendy, D. M. Kipnis
Effects of short fatty acids on plasma in-
sulin in ruminant and nonruminant species.
Endocrinology 83, 118 (1968)
38. Horrobin, D. F.,
Prolactin, physiology and clinical signi-
ficance.
MTP, Medical and Technical Publishing,
(1973)
39. Inui, Y., H. Akedo,
Amino acid uptake by escherichia coli grown
in presence of amino acids.
Evidence for repressibility of amino acid
uptake.
Biochim. Biophys. Acta 94, 143 (1965)

40. Jacquez, J. A., J. A. Schäfer,
Na⁺ and K⁺ electrochemical potential gradients and the transport of α - amino-~~isobutyric~~ butyric acid in Ehrlich ascites tumor cells.
Biochim. Biophys. Acta 193, 368 (1969)
41. Johnstone, R. M., P. G., Scholefield,
The need for ions during transport and exchange diffusion of amino acids into Ehrlich ascites carcinoma cells.
Biochim. Biophys. Acta 94, 130 (1965)
42. Knox, W., E., C. Sharma,
Enzyme induction in perfused rat liver by glucagon and other agents.
Enzym. biol. clin. 9, 21 (1968)
43. Kostyo, J. L., A. F. Redmond,
Role of protein synthesis in the inhibitory action of adrenal steroid hormones on amino acid transport by muscle.
Endocrin. 79, 531 (1966)
44. Krebs, H. A., Henseleit,
Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper.
Hoppe - Seyler's Z. physiol. Chem. 210, 33 (1932)
45. Lefebvre, P. J., R. H. Unger,
Glucagon, molecular physiology, clinical and therapeutic implications.
Pergamon Press Ltd., S. 126 (1972)
46. Manchester, K. L.,
The control by insulin of amino acid incorporation in muscle.
Biochem. J. 117, 457 (1970)
47. Manns, J. G., J. M. Boda,
Insulin release by acetate, propionate, butyrate and glucose in lambs and adult sheep.
Am. J. Physiol. 212, 747 (1967)
48. Manns, J. G., J. M. Boda,
Effects of ovine growth hormone and prolactin on blood glucose, serum insulin, plasma nonesterified fatty acids and amino nitrogen in sheep.
Endocrinology 76, 1109 (1965)

49. Mc. Carthy, R. D., E. M. Kesler,
Relation between age of calf, blood glucose,
blood and rumen levels of volatile
fatty acids and in vitro cellulose digestio
J. Dairy Sci. 39, 1280 (1956)
50. Maynard, H. M., B. Dvorkin, A. White,
Influence of cortisol on the utilisation of
precursors of nucleic acids and protein by
lymphoid cells in vitro.
J. Biol. Chem. 243, 1485 (1968)
51. Maynard, H. M., S. Nagavaka, B. Dvorkin, A. White,
Inhibitory effects of cortisol and anti-
biotics on substrate entry and ribonucleic
acid synthesis in rat thymocytes in vitro.
J. Biol. Chem. 245, 2556 (1970)
52. Morita, Y., A. Munek,
Effect of glucocorticoids in vivo and in
vitro on net glucose uptake and amino acid
incorporation by rat thymus cells.
Biochim. Biophys. Acta 93, 150 (1964)
53. Munro, H. N.,
Mammalian protein metabolism.
Vol. III, Academic Press New York and
London, S. 185 (1969)
54. Nallathambi, S. A., A. M. Coorin, S. A. Adibi,
Hepatic and skeletal muscle transport of
cycloleucine during starvation.
Am. J. Physiol. 223, 13 (1972)
55. Nicholai, H., W. E. Stewart,
Relationship between forestomach and gly-
cemia in ruminants.
J. Dairy Sci. 48, 56 (1965)
56. Noall, M. W., T. R. Riggs, L. M. Walker, H. N. Chri-
stensen,
Endocrine control of amino acid transfer.
Science 126, 1002 (1957)
57. Paine, C. M., E. Heinz,
The structural specificity of the glycine
transport system of Ehrlich carcinoma cells.
J. Biol. Chem. 235, 1080 (1960)
58. Penhos, J. C., M. E. Krah1,
Insulin stimulus of leucine incorporation
in rat liver protein.
Am. J. Physiol. 202, 349 (1962)

59. Radloff, H. O., L. Schultz,
Hormonal regulation of plasma free fatty
acid concentration in ruminants.
J. Dairy Sci. 49, 971 (1966)
60. Reid, R. L.,
Studies on the carbohydrate metabolism
of sheep.
III. The blood glucose during insulin
hypoglycaemia.
Austr. J. agric. Res. 2, 132 (1951)
61. Reilly, P. E. P., A. L. Black,
Early effects of cortisol on glucose and
alanine metabolism in adrenalectomized
sheep.
Am. J. Physiol. 225 (3), 689 (1973)
62. Riggs, T. R.,
Hormones and transport across cell membra-
nes. In: Biochemical actions of hormones
Vol. 1.
Edited by Gerald Litwack.
Academic Press New York and London,
S. 177 (1970)
63. Riggs, R. T., Mc. Kirahan,
Action of insulin of L. alanine into rat
diaphragm in vitro.
Evidence that the hormone affects only one
amino acid transport system.
J. Biol. Chem. 248, 6450 (1973)
64. Risser, W. L., T. D. Gelehrter,
Hormonal modulation of amino acid transport
in rat hepatoma cells in tissue culture.
J. Biol. Chem. 248, 1248 (1973)
65. Sanders, R. B., T. R. Riggs,
Modification by insulin of the distribu-
tion of two model amino acids in the rat,
Endocrinology 80, 29 (1967)
66. Scharrer, E.,
Rückbildung des aktiven intestinalen Gluco-
setransports beim Wiederkäuer.
Zt. f. Tierphysiol., Tierern. und Futter-
mittelk. 32, 320 (1974)
67. Siegel, S.,
Nonparametric statistics for the behavioral
sciences.
Mc. Graw-Hill Book. Comp. Inc.,
S. 79 und 116 (1956)

68. Steel, J. W., R. A. Leng,
Effects of plane of nutrition and pregnancy on gluconeogenesis in sheep.
2. Synthesis of glucose from ruminal propionate.
Br. J. Nutr. 30, 475 (1973)
69. Stern, J. S., C. A. Baile, J. Mayer,
Are propionate and butyrate physiological regulators of plasma insulin in ruminants.
Am. J. Physiol. 219, 84 (1970)
70. Stern, J. S., C. Baile, J. Mayer,
Growth hormone, insulin, and glucose in suckling, weanling and mature ruminants.
J. Dairy Sci. 54, 1052 (1971)
71. Stone, A. J.,
A proposed model for Na⁺ pump.
Biochim. Biophys. Acta 150, 578 (1968)
72. Sutton, J. D., A. D. Mc. Gillard, N. D. Jacobson,
Technique for determining the ability of the reticulorumen of young calves to absorb volatile fatty acids and control of pH.
J. Dairy Sci. 45, 1357 (1962)
73. Tews, J. K., A. E. Harper,
Transport of nonmetabolizable amino acids in rat liver slices.
Biochim. Biophys. Acta 183, 601 (1969)
74. Tews, J. K., A. E. Harper,
Amino acid transport in rat liver slices during development.
Biochim. Biophys. Acta 183, 635 (1969)
75. Tews, J. K., N. A. Woodcock, A. E. Harper,
Stimulation of amino acid transport in rat liver slices by epinephrine, glucagon and adenosine 3', 5' monophosphate.
J. Biol. Chem. 245, 3026 (1970)
76. Tews, J. K., N. A. Woodcock, A. E. Harper,
Effect of protein intake on amino acid transport and adenosine 3', 5' monophosphate content in rat liver.
J. Nutrition 102, 409 (1972)
77. Van Rossum, G. D.,
Net sodium and potassium movements in liver slices prepared of different foetal and postnatal ages.
Biochim. Biophys. Acta 71, 1 (1963)

78. Wermers, G. W., L. Rusin, R. C. Kolbeck, H. M. Caver, F. D. Quello,
Some ionic factors in amino acid transport
in contracting rat diaphragm.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 144, 277
(1973)
79. Wolf, J. E., E. N. Bergmann, H. Williams,
Net metabolism of plasma amino acids by
liver and portal drained viscera of fed
sheep.
Am. J. Physiol. 223 (2), 438 (1972)
80. Wolf, J. E., E. N. Bergmann,
Gluconeogenesis from plasma amino acids
in fed sheep.
Am. J. Physiol. 223, 455 (1972)
81. Zimmermann-Telschow, H., L. Herberg, F. A. Gries,
H. Bethge, H. Zimmermann,
Über die Veränderung von Aminosäuren, Blutzucker,
Glucocorticoiden, freien Fettsäuren
und freiem Glycerin in Plasma nach Insulin-
injektion mit und ohne Infusion von Aminosäuren.
Klin. Wochenschr. 47, 651 (1969)

Lebenslauf

Am 10. September 1945 wurde ich, Jürgen Blatt, als Sohn des Arztes Dr. Karl Blatt und seiner Ehefrau Roselinde, geb. Feit, in St. Ingbert im Saarland geboren. Nach 4 jährigem Besuch der Volksschule trat ich im Frühjahr 1955 in das staatliche Realgymnasium in St. Ingbert ein. Dort legte ich im März 1964 mein Abitur ab und studierte zunächst Humanmedizin an der Universität Saarbrücken.

Ab Sommersemester 1968 studierte ich an der Universität München Tiermedizin und bestand im Februar 1973 mein Staatsexamen. Seit Mai 1973 bin ich approbierter Tierarzt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Privatdozenten
Dr. Erwin Scharrer für die zahlreichen Anregungen bei
der Durchführung meiner Untersuchungen und für die
Durchsicht der Arbeit.

Diese Arbeit ist im Sonderforschungsbereich 147-Jung-
tierkunde München- entstanden.

